

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Robert CHARDARD

Première Thèse

RECHERCHES SUR LES CELLULES-MÈRES DES
MICROSPORES DES ORCHIDÉES
ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 14 mars 1962 devant la Commission d'examen

M. PLANTEFOL

Président.

M. EICHHORN

M. BUVAT

} *Examineurs.*

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS-V^e

1962

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Robert CHARDARD

Première Thèse

RECHERCHES SUR LES CELLULES-MÈRES DES
MICROSPORES DES ORCHIDÉES
ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 14 mars 1962 devant la Commission d'examen

M. PLANTEFOL

M. EICHHORN

M. BUVAT

Président.

Examineurs.

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS-Ve

1962



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen.

M. ZAMANSKY.

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	WIEMANN	T Chimie organique et struct.
DE BROGLIE	T Théories physiques.	JACQUINOT	T Spectroscopie et physique céleste (Orsay).
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.	VASSY	T Physique de l'atmosphère.
PÈRES	T Mécanique des fluides et applications.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
GRASSÉ	T Evolution des êtres organisés.	AMIEL	T Chimie générale.
PRÉVOST	T Chimie organique.	HOCART	T Minéralogie et Cristallog.
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	J.-P. MATHIEU	T Physique (Optique).
WYART	T Minéralogie et Cristallog.	COUTEAUX	T Biologie animale (P. C. B.).
TEISSIER	T Zoologie.	MAY	T Zoologie (Orsay).
MANGENOT	T Biologie végétale (Orsay).	CHOQUET	T Théorie des fonctions et Topologie.
AUGER	T Physique quantique et Relativité.	FELDMANN	T Biologie végétale marine.
MONNIER	T Physiologie générale.	GUINIER	T Physique des solides (Orsay).
PIVETEAU	T Paléontologie.	JOST	T Physiologie comparée.
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathématique.
CARTAN	T Mathématiques (E. N. S.).	SCHWARTZ	T Calcul différentiel et intégral.
LAFFITTE	T Chimie générale.	CHOUARD	T Physiologie végétale.
FAVARD	T Géométrie supérieure.	MALAVARD	T Aviation (Techn. aéronaut.)
COULOMB	T Physique du globe.	BRELOT	T Calcul diff. et intégral.
M ^{lle} COUSIN	T Biol. animale (S. P. C. N.).	NORMANT	T Synthèse organ. générale.
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	BENARD	T Chimie minérale.
DRACH	T Zoologie.	BUYAT	T Botanique (E. N. S.).
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	DUGUÉ	T Statistiques mathématiques.
EPHRUSSI	T Génétique.	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
RIVIÈRE	T Géologie (S. P. C. N.) et sédim.	ULRICH	T Physiologie végétale.
GAUTHERET	T Biologie végétale (P. C. B.).	MARÉCHAL	T Optique théorique et appliquée.
LUCAS (R.)	T Recherches physiques.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
THOMAS (A.)	T Biologie cellulaire.	CHADEFAUD	T Botanique.
ARNULF	T Optique appliquée.	M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie de la nutrit.
MORAND	T Physique Enseignement.	SALEM	T Mathématiques générales.
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	LELONG	T Appl. de l'analyse à la géométrie.
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides.	DEVILLERS	T Anat. et Histol. comparées.
DANJON	T Astronomie.	EHRESMANN	T Topologie Algébrique.
PETIT	T Biologie maritime.	FRANÇON	T Physique (S. P. C. N.).
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	GLANGEAUD	T Géographie physique et Géologie dynamique.
GALLIEN	T Embryologie.	GODEMENT	T Mathématiques (M. P. C.).
EICHHORN	T Botanique.	PISOT	T Techniques mathématiques de la Physique.
DE CUGNAC	T Biologie vég. (S. P. C. N.).	ROCH	T Géologie.
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie-Physique.	SCHATZMANN	T Astrophysique.
THELLIER	T Physique du globe.	TERMIER	T Paléontologie stratigraphique.
L'HÉRITIER	T Biologie générale (Orsay).	ZAMANSKY	T Mathématiques générales.
GRIVET	T Radio-électricité (Orsay).	LENNUIER	T Physique (M. G. P.).
PONCIN	T Mécanique générale.	RIZET	T Génétique (Orsay).
DUBREIL	T Arithmétique et Théorie des nombres.	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
QUELET	T Chimie organique.	M ^{me} TONNELAT	T Physique théorique.
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.	DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).
CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire.	SOUCHAY	T Chimie générale.
CUVILLIER	T Micropaléontologie.	AIGRAIN	T Electrotechn. générale.
JUNG	T Pétrographie.	BRUSSET	T Chimie systématique.
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.	M. LÉVY	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay).

M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.	BENOIT	T	Physiol. animale (Orsay).
M ^{me} HUREL-PY.	T	Biologie végétale (P. C. B.).	DE POSSEL	T	Analyse numérique.
PIAUX	T	Chimie (M. P. C.).	CHARLOT	T	Chimie analytique.
BRUN	T	Mécanique théorique des fluides.	HAISSINSKY	T	Radiochimie.
LEDERER	T	Chimie biologique.	LEMÉE	T	Physiol. vég. (B. M. P. V.) (Orsay).
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques (Agrégation).	GUÉRIN	T	Chimie (M. P. C.) (Orsay)
M ^{me} LELONG	T	Mathématiques (E. N. S.).	CHATELET (M.)		Chimie (P. C. B.).
BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).	JEAN	T	Physique Nucléaire (Orsay).
COTTE	T	Physique électricité.	MATTIER	T	Physique (S.P.C.N.) (Ors.)
DUBOIS (J. E.)	T	Chimie organique.	MICHEL (L.)		Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).	BERGERARD		Zoologie (Orsay).
MICHEL (A.)	T	Chimie minérale (Orsay).	BERTEIN		Electronique (Orsay).
OLMER	T	Energétique générale.	BOUSSIÈRES		Chimie des Radioéléments (Orsay).
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).	Mme COUTURE		Thermodynamique et Méc. physique.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	ELLENBERGER		Géologie appl s/ le terr.
BARCHIEWITZ	T	Chimie-Physique.	FRANC		Biologie animale (P. C. B.).
BROSSEL	T	Physique atomique.	SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay).
BUSER		Physiologie comparée.	STOLKOWSKI		Physiologie générale.
CAMUS		Physiologie vég. B. M. P. V.	ACHER		Chimie Biologique (Orsay).
CASTAING	T	Physique (Orsay).	BAUDOUIN		Biologie animale (P. C. B.).
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallog.	BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.).
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay).	BLAMONT		Géophysique Ionosphère.
NOIROT		Evolution des Etres org.	BOUREAU		Botanique.
PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay).	CURIE (D.)		Physique (M. G. P.).
POSSOMPES	T	Zoologie.	DURAND-DELGA		Géologie.
PULLMANN	T	Chimie théorique.	FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
TEILLAC	T	Physique nucléaire et Radioactivité.	HELLER		Physiologie végétale.
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique.	TORTRAT		Calcul des Probabilités.
VILLE	T	Econométrie.	CAILLEUX		Géologie (S. P. C. N.).
WILLEMART		Chimie (P. C. B.).	MAGNAN	T	Physique (S. P. C. N.).
DODÉ	T	Chimie (Orsay).	DAUDEL	T	Mécanique Ondulatoire appliquée à la chimie théorique et à la Physique Nucléaire.
FREYMANN	T	Recherches physiques.	Mlle FOURCROY		Biologie Végétale (S.P.C.N.).
GUINOCHET	T	Biolo. vég. (S. P. C. N.), (Orsay).	Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. analytique et Méc. céleste.
ROLLET	T	Chimie (P. C. B.).	Mlle VEIL		Physiologie générale.
Mlle JOSIEN	T	Chimie (S. P. C. N.).	LWOFF	T	Microbiologie.
CHEVALLEY	T	Géométrie algéb. et théor. des groupes.	SIESTRUNCK	T	Mécan. phys. et expérim.
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).	LACOMBE	T	Métallur. des métaux nucl.
CHAPELLE	T	Physique (Orsay).	BROCHARD	T	Physique (P. C. B.) (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).	CABANNES	T	Mécanique générale.
DENY	T	Mathém. gén. (Orsay).	LESIEUR	T	Mathématiques (M. P. C.) (Orsay)
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.	MAZET	T	Mécanique gén. (Orsay).
LUCAS (G.)	T	Géologie.	CAIRE		Géographie phys. et Géol. dynamique.
ALLARD	T	Chimie-Physique.	COMOLET		Mécanique des Fluides.
BERTHELOT	T	Physique fondamentale des Hautes Energies (Orsay).	CORABŒUF		Physiologie animale.
BRICARD	T	Météorologie et Physique de l'Atmosphère.	DELLOUE		Physique de l'exosphère.
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie.	GORENFLOT		Botanique II (Orsay).
FRIEDEL		Physique des Solides (Ors.)	HOULLON		Biologie animale (P.C.B.).
M. JULIA		Etudes des Mol. nat. complexes.	JULLIEN (J.)		Chimie (P. C. B.).
LENDER	T	Biol. Animale (S. P. C. N.), Orsay.	MALGRANGE		Tech. Math. de la Phys.
MAGAT		Physico-chimie des Radio-éléments.	OLIVIER		Anthropologie.
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie.	NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
MONOD	T	Chimie du métabolisme.	BLANC-LAPIERRE		Physique (E. N. S.) (Ors.).

Secrétaire général

R. POULLAIN.

Recherches
sur les cellules-mères des microspores
des Orchidées.

Étude au microscope électronique

par

Robert CHARDARD

Out of this recrudescence new concepts are developing which will certainly affect the fundamental principles of all other biological disciplines just as radically as the cell theory revolutionized biology more than one hundred years ago. Since the properties of life are inherent in the organization of living matter, cytology serves as a unifying science, bringing the disciplines of physiology and biochemistry together within the framework of morphology.

Sandford L. PALAY, *Frontiers in cytology*, Introduction, Yale University Press, New-Haven 1958.

Cette nécessité de la dessiccation ainsi que l'effet destructeur du bombardement par les électrons... sont peu favorables à l'examen d'objets très délicats, d'ordre biologique... Le domaine de l'anticipation et de l'hypothèse est largement ouvert, mais tout cela ne permet pas d'envisager comme prochaine l'entrée de ce genre d'instruments dans la pratique micrographique.

M. LANGERON, *Précis de microscopie*, septième édition, pp. 337-338, Masson et Cie, Paris 1949.

SOMMAIRE

Résumés	4
Introduction	16
Matériel et Méthodes	20

Le Noyau

LA MEMBRANE NUCLÉAIRE.

I. — Historique.....	25
A) La membrane nucléaire au microscope photonique	25
B) La membrane nucléaire au microscope électronique.....	26
II. — Observations personnelles.....	34
A) Structure de l'enveloppe nucléaire des Orchidées.....	34
B) Rapports entre l'enveloppe nucléaire et le cytoplasme.....	36
C) Rapports entre l'enveloppe nucléaire et la chromatine.....	37
D) Evolution de l'enveloppe nucléaire au cours de la division.....	38
III. — Discussion.....	39

LE NUCLÉOLE.

I. — Historique.....	46
A) Le nucléole des Animaux.....	46
B) Le nucléole des Végétaux.....	47
II. — Observations personnelles.....	48
A) Forme et structure du nucléole dans le noyau interphasique d' <i>Oncidium splendidum</i>	48
B) Evolution de la structure nucléolaire au cours de la division du noyau.....	49
C) Contacts chromatine nucléole.....	50
III. — Discussion.....	51

LA CHROMATINE ET LE NUCLÉOPLASME.

I. — Historique.....	56
II. — Observations personnelles.....	59

La méiose.

A) La préprophase chez <i>Oncidium splendidum</i>	59
B) Le début de la prophase : le synapsis.....	60
C) Les stades post-synapsis.....	62
D) La métaphase.....	65

La mitose.

La métaphase.....	66
L'anaphase.....	67
La télophase.....	68

III. — Discussion.....	69
DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION DE L'ÉTUDE DU NOYAU.....	86
Le Cytoplasme	
GÉNÉRALITÉS.....	93
L'APPAREIL DE GOLGI.....	93
I. — Observations personnelles.....	94
II. — Discussion.....	95
L'ERGASTOPLASME OU RETICULUM ENDOPLASMIQUE.	
I. — Historique.....	96
II. — Observations personnelles.....	98
III. — Discussion.....	100
LA PELLICULE ECTOPLASMIQUE.	
I. — Historique.....	103
II. — Observations personnelles.....	103
III. — Discussion et conclusion.....	104
LE CHONDRIOME ET LE PLASTIDOME.	
I. — Historique.....	106
II. — Observations personnelles.....	108
A) Etude du chondriome-plastidome chez <i>Oncidium splendidum</i>	108
B) Etude du chondriome-plastidome chez <i>Aerides houlletianum</i>	109
C) Etude du chondriome-plastidome chez <i>Vanda boshii</i>	110
III. — Discussion.....	112
LA MATIÈRE FONDAMENTALE DU CYTOPLASME.....	117
LES PLASMODESMES.	
I. — Historique.....	117
II. — Observations personnelles.....	119
LA CYTOMIXIE.	
I. — Historique.....	119
II. — Observations personnelles.....	120
III. — Discussion.....	122
Bibliographie.....	124
Explication des planches.....	135

RESUME

Les cellules-mères des microspores des Orchidées suivantes ont été examinées au microscope électronique au cours de la méiose hétérotypique et de la première division pollinique : *Oncidium splendidum*, *Aerides houlletianum*, *Vanda boshii*. Ce travail comprend l'étude de l'ultrastructure du noyau et du cytoplasme.

I. — L'ULTRASTRUCTURE DU NOYAU

1) L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE.

L'enveloppe nucléaire est épaisse de 150 à 240 Å. Elle est constituée de deux membranes de 75 Å d'épaisseur, séparées par un espace périnucléaire de 50 à 100 Å.

Dans les coupes diamétrales du noyau, l'enveloppe nucléaire montre des discontinuités ou « pores ». Ce sont des perforations véritables, non obturées par une membrane ou un diaphragme. Leur aspect en coupes tangentielles est celui d'« anneaux ».

Il n'y a pas de formations accessoires telles que le « pore complex » ou de couche en « nid d'abeilles ».

On a observé des liaisons entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme, ainsi que la présence de vésicules au voisinage du noyau. Par contre, on ne remarque que très rarement l'évidence d'un passage direct de substances entre le noyau et le cytoplasme, à travers les pores de l'enveloppe nucléaire.

Au début de la prophase I, le contour du noyau est très festonné. Au fur et à mesure que la prophase s'avance, les deux membranes se décollent ; une fragmentation se produit et l'enveloppe nucléaire disparaît en fin de prophase, par désorganisation et non par lyse.

A la première division pollinique, dès l'anaphase, des vésicules et des membranes de l'ergastoplasme s'assemblent autour des lots de chromosomes ; à la télophase elles prennent contact entre elles et reconstituent l'enveloppe nucléaire.

2) LE NUCLÉOLE.

Les nucléoles apparaissent denses et homogènes. Ils sont du type compact. A plus haute résolution, on voit qu'ils sont constitués de fines fibrilles très serrées et très contournées. Le nucléole contient également des « foamy-particles ». Les contacts entre les filaments chromatiques et le nucléole ont été également observés.

Au cours de la prophase I, de nombreux fragments nucléolaires se dispersent dans le noyau et se rapprochent de l'enveloppe nucléaire, tandis que le nucléole lui-même s'alvéolise.

L'ultrastructure des nucléoles des cellules-mères de microspores d'Orchidées est différente de celle des nucléoles des Animaux et la distinction entre « pars amorpha » et « nucléolonéma » n'a pas été reconnue.

A la télophase, on distingue, au contact des chromosomes, des particules de même densité que le nucléole. Celui-ci ne prendrait donc pas naissance en des endroits privilégiés du chromosome ou « zones nucléoligènes », mais sur toute la surface du chromosome.

3) LA CHROMATINE ET LE NUCLÉOPLASME.

a) *Dans le noyau au repos.*

La chromatine se présente, dans le noyau au repos, sous forme de fibrilles de 100 Å d'épaisseur, aussi bien dans les travées du réseau que dans les chromocentres.

Dans les mailles du réseau, on observe une substance granulo-fibrillaire qui représente le nucléoplasme.

b) *Dans le noyau au cours de la méiose.*

La présence de formations axiales simples et doubles, analogues au « chromosomal core » et au « synaptinomal complex » des cellules animales, a été reconnue au début de la prophase I. Les questions relatives à leur nature sont discutées. Les formations doubles proviennent de l'appariement de deux formations simples et elles caractérisent le « synapsis ». Elles sont séparées par un sillon clair que l'on peut suivre à travers toute la prophase.

Au pachytène, on remarque un tassement des parties latérales d'une formation double en même temps qu'un enroulement relationnel.

Au diplotène on observe une fissuration de chacun des chromosomes homologues.

A la diacinèse, un raccourcissement important se produit ; on aboutit ainsi aux bivalents de métaphase I.

A la première division pollinique, les chromosomes de métaphase sont longs et grêles, mais ils sont composés de fibrilles de même diamètre que celles du chromosome de métaphase I.

De cette étude, on conclut que :

— Il n'y a pas de membrane autour du chromosome.

— Il n'y a pas de « matrice ».

— Le « chromonéma » décrit au microscope photonique n'a pas été reconnu. Par contre, on pense que le chromosome est constitué de fibrilles de 100 Å d'épaisseur, qui contiennent l'ADN. A titre d'hypothèse,

le chromosome est représenté comme un faisceau de fibrilles, faisceau qui possède le même ordre d'enroulement que le « chromonéma » de la cytologie classique.

4) LA STRUCTURE DU FUSEAU.

Le fuseau n'est pas entouré par une membrane fusoriale. On distingue dans le fuseau des tubules de 200-250 Å de diamètre qui sont vraisemblablement des formations de l'ergastoplasme. On rencontre également des vacuoles, des granules et quelques fibrilles.

5) LE PHRAGMOPLASTE.

A l'anaphase, après la séparation des deux lots de chromosomes, puis à la télophase, on peut observer la structure du phragmoplaste ; la genèse de la plaque cellulaire, à l'équateur du phragmoplaste, a été suivie à partir des vésicules de l'ergastoplasme.

II. — L'ULTRASTRUCTURE DU CYTOPLASME

1) L'APPAREIL DE GOLGI.

L'appareil de Golgi est présent dans les cellules-mères de microspores et dans les microspores sous forme de dictyosomes constitués par des piles de 4 ou 5 saccules aplatis émettant latéralement des vésicules. Les dictyosomes sont de faible diamètre (0,5 μ en moyenne) mais ils peuvent être localement assez nombreux (5 ou 6 par coupe de cellule).

2) L'ERGASTOPLASME.

Cet appareil existe sous forme de saccules aplatis ou légèrement dilatés, disposés de façon irrégulière dans le cytoplasme, et de tubules.

A la fin de la prophase I, on constate une vacuolisation du cytoplasme par dilatation des saccules.

Les grains de Palade, abondants avant la méiose et au début de celle-ci, semblent libres dans le cytoplasme. Les membranes sont donc du type « smooth ».

Dans les microspores et les grains de pollen jeunes, le cytoplasme reprend une certaine densité, corrélative d'une diminution de la taille des vacuoles.

3) LA PELLICULE ECTOPLASMIQUE.

Une pellicule ectoplasmique, formée d'une double membrane, entoure le cytoplasme aux différents stades. Elle possède des invaginations qui ont été mises en rapport avec le phénomène de la « pinocytose ».

4) LE CHONDRIOME ET LE PLASTIDOME.

a) Chez *Oncidium splendidum*, on trouve dans les cellules-mères, au début de la méiose, des chondriosomes pauvres en crêtes ou en tubules ; il existe de nombreux plastes possédant une substance fondamentale très claire, dans laquelle les lamelles sont fort rares ou même absentes. Ce sont des plastes indifférenciés.

Dans les microspores et les grains de pollen, les proplastes possèdent une substance fondamentale plus dense, avec des crêtes. Cette structure traduit un début de différenciation.

b) Chez *Aerides houilletianum*, il existe, au début de la méiose, des plastes fonctionnels et des chondriosomes.

Dans les microspores, on rencontre des chondriosomes avec des crêtes agglomérées en amas et des proplastes.

c) Chez *Vanda boshii*, on observe, au début de la méiose, des chondriosomes typiques et des plastes indifférenciés.

Dans les microspores et dans les grains de pollen, on trouve des chondriosomes et des plastes dont les uns possèdent un « granum primaire » tandis que les autres montrent un début de différenciation en lamelles granaires.

Dans les cellules reproductrices des grains de pollen de toutes ces espèces, on n'a jamais rencontré de chondriosomes ou d'éléments plastidiaux.

5) LES PLASMODESMES.

Les plasmodemes sont présents aux différents stades. Ils correspondent à la description classique. Mais on a observé, en outre, le passage de proplastes, d'une cellule à l'autre, par des perforations de la paroi plus grosses que dans le cas des plasmodemes.

6) LA CYTOMIXIE.

Des cas de cytomixie et d'extrusion du noyau ont été constatés à différents stades de l'évolution des cellules-mères des microspores. Ces observations précisent les modalités du phénomène.

*
* *

SUMMARY

The mother cells of the microspores of the following Orchids were examined by means of the electron microscope during heterotype meiosis and the first pollen grain division : *Oncidium splendidum*, *Aerides houilletianum*, *Vanda boshii*. This work includes the study of the ultrastructure of the nucleus and cytoplasm.

I. — THE ULTRASTRUCTURE OF THE NUCLEUS

1) THE NUCLEAR COVERING

The nuclear covering is between 150 to 240 Å thick. It consists of two membranes of 75 Å thickness, separated by a perinuclear space of 50 to 100 Å.

The radial sections of the nucleus showed the presence of discontinuities or « pores » in the nuclear covering. These are veritable perforations that are not obturated by a membrane or diaphragm. They appear as « rings » in tangential sections.

No accessory structures such as the « complex pore » or « honeycomb » layer were found present.

Connections between the nuclear covering and the ergastoplasm were observed as well as the presence of vesicles in the region of the nucleus. On the other hand, evidence of a direct passage of substances between the nucleus and the cytoplasm via the pores of the nuclear covering was very rarely witnessed.

At the beginning of prophase I the outline of the nucleus is very lobed. As the prophase progresses the two membranes become separated from each other ; a general disintegration follows and the nuclear covering disappears at the end of the prophase, due to a disorganization rather than to lysis.

At the first division of the pollen grains, as soon as the anaphase begins, vesicles and membranes of ergastoplasm become grouped round different groups of chromosomes ; at the telophase they are in contact with them and they reconstitute the nuclear covering.

2) THE NUCLEOLUS.

The nucleolus appear to be dense and homogenous. They are of the compact type. On closer examination it was found that they consisted of

fine very tightly coiled fibrils. The nucleolus also contains « foamy particles ». Connections between the chromatin threads and the nucleolus were also observed.

During prophase I, numerous nucleolar fragments become dispersed throughout the nucleus and approach nearer to the nuclear covering, whereas the nucleolus itself becomes alveolate.

The ultrastructure of the nucleolus of mother cells of the microspores of the Orchideae differs from that of the nucleolus of Animals and no distinction could be made between « pars amorpha » and « nucleolonema ».

At the telophase stage particles having the same density as the nucleolus could be distinguished in contact with the chromosomes. Hence, the nucleolus does not appear to arise from any preferential parts of the chromosome or from the « nucleoligen zones », but from the whole of the surface of the chromosome.

3) THE CHROMATIN AND NUCLEOPLASM.

a) *In the resting nucleus.*

In the resting nucleus the chromatin is present in the form of fibrils of 100 Å thickness, in the branches of the reticulum as well as in the chromomeres.

Within the network of the reticulum a granular fibrillar substance may be distinguished which represents the nucleoplasm.

b) *In the nucleus during meiosis.*

The presence of single and double axial structures, analogous to the « chromosomal core » and to the « synaptonemal complex » of animal cells, were observed at the beginning of prophase I. The different questions relating to the nature of these structures are discussed. The double structures arise from the pairing off of two single structures and they characterize the « synapsis ». They are separated by a clear streak which may be traced throughout the whole of the prophase.

At the pachytene stage, a packing together into the peripheral regions of the double structure may be noticed and at the same time, an intimate twisting together.

At the diplotene stage a split is observed in each of the homologous chromosomes.

At diakinesis, a considerable shortening occurs; thus giving rise to the bivalent forms of metaphase I.

In the first pollen division, the chromosomes of the metaphase are long and slender, but nevertheless they consist of fibrils having the same diameter as those of the chromosomes of metaphase I.

It may be concluded from this study that :

— The chromosome is not surrounded by a membrane.

— There is no « matrix ».

— The presence of the « chromonema » as described under the light microscope was not recognizable. On the other hand, it could be presumed that a chromosome consist of fibrils of 100 Å thickness, which contain DNA. As a hypothesis, a chromosome could be considered to be a spindle of fibrils, a spindle which develops in the same manner as the « chromonema » of classical cytology.

4) THE STRUCTURE OF THE SPINDLE.

The spindle is not surrounded by a spindle membrane. Tubules of 200-250 Å diameter may be distinguished within the spindle and which are probably structures formed from the ergastoplasm. Vacuoles, granules and a few fibrils may also be found present.

5) THE PHRAGMOPLAST.

The structure of the phragmoplast can be observed during the anaphase, after separation of the two lots of chromosomes, and then during the telophase; the formation of the cell plate at the equator of the phragmoplast has been traced from the vesicles of ergastoplasm.

II. — THE ULTRASTRUCTURE OF THE CYTOPLASM

1) THE GOLGI APPARATUS.

The Golgi apparatus is found present in the mother cells of the microspores and in the microspores themselves in the form of dictyosomes consisting of an accumulation of 4 or 5 flattened saccules that put out vesicles laterally. The dictyosomes are of a very small diameter (0,5 μ on an average) but locally they can be quite numerous (5 or 6 per cell section).

2) THE ERGASTOPLASM.

This structure exists in the form of either flattened or slightly dilated saccules, arranged in an irregular manner in the cytoplasm, and tubules.

At the end of prophase I, a vacuolation of the cytoplasm caused by the dilatation of the saccules is ascertained.

The Palade particles found to be abundant before meiosis and at the onset of meiosis, seem to be free in the cytoplasm. Hence, the membranes are of the « smooth » type.

In the microspores of young pollen grains, the cytoplasm seems to

regain a certain density, which is correlative to a decrease in the size of the vacuoles.

3) THE ECTOPLASMIC SKIN.

An ectoplasmic skin consisting of a double membrane surrounds the cytoplasm during the various stages. It shows the presence of invaginations which have been related to the phenomenon of « pinocytosis ».

4) THE CHONDRIOME AND THE PLASTIDOME.

a) In *Oncidium splendidum*, chondriosoma were found in the mother cells at the beginning of meiosis that had very few cristae or tubuli ; there were a number of plastids that had a very clear basic substance in which the lamellae were found to be extremely rare or even absent. These are non differentiated plastids.

The proplastids in the microspores and pollen grains contain a basic substance that is denser, and that shows the presence of crests. This structure reflects the beginning of some differentiation.

b) In *Aerides houilletianum*, functional plastids and chondriosoma were observed at the beginning of meiosis.

In the microspores conglomerated accumulations of chondriosoma and proplastids were encountered.

c) In *Vanda boshii*, typical chondriosoma and non differentiated plastids were observed at the onset of meiosis.

Chondriosoma and plastids were to be found in the microspores and pollen grains, the former containing a « primary granum » while the latter showed the beginning of some differentiation into lamellae of grana.

Neither chondriosoma nor plastidular elements have ever been distinguished in the reproductive cells of the pollen grains of any of these species.

5) THE PLASMODESMA.

Plasmodesma are present at the various stages. They conform to classical specifications. Furthermore, the passage of proplasts from one cell to another was observed via perforations in the wall that were larger than those observed in the case of the plasmodesma.

6) THE CYTOMIXIS.

Cases of cytomixis and extrusion of the nucleus have been witnessed at different stages in the evolution of the mother cells of the microspores. These observations confirm the way in which this phenomenon takes place.

*
* *

ZUSAMMENFASSUNG

Die Mutterzellen der Mikrosporen folgender Orchideen sind mit Hilfe des Elektronenmikroskopes während der Reifeteilung und der ersten Pollenteilung beobachtet worden: *Oncidium splendidum*, *Aerides houilletianum*, *Vanda boshii*. Unser Artikel untersucht die Ultrastruktur des Kernes und des Cytoplasmas.

I. — DIE ULTRASTRUKTUR DES KERNES

1) DIE KERNHÜLLE.

Die Kernhülle ist 150 bis 240 Å dick. Sie besteht aus 2 Membranen von 75 Å Dicke, die ein perinuclearer Zwischenraum von 50 bis 100 Å trennt.

Diametralschnitte des Kernes lassen an der Kernhülle Unterbrechungen oder « Poren » erkennen. Es handelt sich um wahre Perforationen, die weder von einer Membrane noch von einem Diaphragma obturiert sind. In Tangentialschnitten sehen sie wie Ringe aus.

Akzessorische Bildungen wie der « Porenkomplexus » oder Schichten in Form von Bienenwaben gibt es nicht.

Man hat Zusammenhänge zwischen der Kernhülle und dem Ergastoplasma sowie kleine Blasen in der Nähe des Kernes beobachtet. Es ist jedoch äusserst selten, dass man einen direkten Übergang von Substanzen, zwischen dem Kern und dem Cytoplasma, quer durch die Poren der Kernhülle beobachten kann.

Zu Beginn der Prophase I ist der Umriss des Kernes stark ausgeschweift.

In dem Masse wie die Prophase abläuft, lösen sich die beiden Membranen ab: es tritt eine Fragmentation ein, und die Kernhülle verschwindet am Ende der Prophase durch Auflösung und nicht durch Lyse.

Bei der ersten Pollenteilung, und zwar schon während der Anaphase, sammeln sich die Bläschen und Membranen des Ergastoplasmas um die Chromosomenhaufen; bei der Telophase, verbinden sie sich miteinander und bauen eine neue Kernhülle auf.

2) DER NUCLEOLUS.

Die Nucleolen sind schwer und homogen. Sie sind von kompakter Art. Bei starker Vergrösserung sieht man, dass sie aus feinen Fäserchen bestehen, die sehr dichtgedrängt und verdreht sind. Der Nucleolus enthält

ausserdem noch die « foamy-particles ». Man hat auch Kontakte zwischen chromatischen Fasern und dem Nucleolus beobachtet.

Im Laufe der Prophase I zersplittern sich zahlreiche nucleolische Fragmente im Innern des Kernes und nähern sich der Kernhülle, indes im Nucleolus immer mehr kleine Hohlräume entstehen.

Die Feinstruktur der Nucleolen in den Mutterzellen der Orchideemikrosporen unterscheidet sich von jener der Tiernucleolen, und der Unterschied zwischen « pars amorpha » und « nucleolonema » war nicht erkennbar.

Während der Telophase bemerkt man unter den Teilchen, die die Chromosomen berühren, solche, die genau so dicht sind wie der Nucleolus selbst. Er entsteht also nicht an besonderen Punkten des Chromosoms, auch « nucleolusschaffende Zonen » genannt, sondern auf der ganzen Oberfläche des Chromosoms.

3) DAS CHROMATIN UND DIE KARYOLYPHE.

a) *Das Kerninnere in Ruhestellung.*

Das Chromatin weist, im Kern in Ruhestellung, Fibrillen von 100 Å Dicke auf, und zwar bestehen diese sowohl in den Netzmaschen als auch in den Chromozentren.

Die Maschen des Netzes enthalten eine körnig-faserige Substanz: die Karyolymphe.

b) *Das Kerninnere während der Reifeteilung.*

Das Vorhandensein einfacher und doppelter Axialbildungen, ähnlich der « chromosomal core » und des « synaptonemal complex » der Tierzellen, ist zu Beginn der Prophase I festgestellt worden. Man führt Probleme an, die ihr Wesen erörtern. Die Doppelbildungen entstehen aus der Paarung zweier Einzelformationen; sie sind charakteristisch für die Synapsis. Sie sind durch eine helle Furche getrennt, die man während der ganzen Prophase verfolgen kann.

Beim Pachytänstadium bemerkt man gleichzeitig ein Zusammengedrücktsein der Seitenteile einer Doppelbildung und eine wechselseitige Wickelung.

Im Diplotänstadium beobachtet man eine Spaltung der homologen Chromosomen.

Während der Diakinese tritt eine erhebliche Verkürzung ein; man gelangt so zu den bivalenten Chromosomen der Metaphase I.

Bei der ersten Pollenteilung der Metaphase sind die Chromosomen lang und dünn, aber trotzdem setzen sie sich aus Fäserchen zusammen, die nicht weniger dick (selbe Diameter) sind als jene, die die Chromosomen der Metaphase I bilden.

Man kann abschliessend sagen:

— Das Chromosom ist von keiner Membrane umgeben.

— Es besteht keine « Matrix ».

— Das « Chromonema », das dank des Photonenmikroskopes beschrieben worden ist, wurde nicht identifiziert. Man kann sich jedoch vorstellen, dass das Chromosom aus Fasern von 100 Å Dicke besteht die das DNS enthalten. Man hat vorausgesetzt, dass das Chromosom einem Fasernbüschel, welches im selben Sinne wie das « Chromonema » der klassischen Zellenlehre eingerollt ist, gleichkommt.

4) AUFBAU DER SPINDEL.

Die Spindel besitzt keine Membrane. In der Spindel unterscheidet man Tubuli mit 200 bis 250 Å Durchmesser, welche höchstwahrscheinlich eine Bildung des Ergastoplasmas sind. Man findet auch Vakuolen, Körnchen und einige Fasern.

5) DAS PHRAGMOPLAST.

Die Struktur des Phragmoplasts kann, während der Anaphase, nach der Teilung der beiden Chromosomenhaufen oder während der Telophase beobachtet werden; die Entstehung der Zellplatte am Equator des Phragmoplasts ist mit Hilfe der Ergastoplasmaabläschen verfolgt worden.

II. — DIE ULTRASTRUKTUR DES CYTOPLASMAS

1) DAS GOLGI-APPARAT.

Das Golgi-Apparat der Mikrosporenmutterzellen oder der Mikrosporen besteht aus Dictyosomen, die wiederum aus Häufchen von 4 oder 5 flachen, seitlich Bläschen abstossenden Sacculen aufgebaut sind. Die Dictyosomen haben einen kleinen Durchmesser (durchschnittlich 0,5 μ), sie können jedoch an gewissen Stellen sehr zahlreich sein (5 oder 6 pro Zellenquerschnitt).

2) DAS ERGASTOPLASMA.

Diese Formation setzt sich aus abgeflachten oder leicht gedehnten Sacculen zusammen, die sich, unregelmässig verteilt, im Cytoplasma und den Tubuli befinden.

Gegen Ende der Prophase I bemerkt man eine Vacuolisation des Cytoplasmas durch Dehnung der Sacculen.

Die Palade-Körnchen, die vor der Reifeteilung und in ihrem Anfangsstadium in grosser Anzahl vorhanden sind, scheinen frei im Cytoplasma zu existieren. Folglich ist die Art der Membranen als « smooth » zu bezeichnen.

In den Mikrosporen und den jungen Pollenkörnern wird das Cytoplasma wieder dichter, und zwar entspricht die Zunahme seiner Dichte einer Verminderung der Vakuolengrösse.

3) DAS EKTOPLASMAHÄUTCHEN.

Das Ektoplasmahäutchen, das aus einer doppelten Membrane besteht, schliesst das Cytoplasma im Laufe der verschiedenen Stadien ein. Es bildet Einstülpungen, die man mit der Erscheinung der Pinocytose in Verbindung bringt.

4) DAS CHONDRIOSOM UND DAS PLASTIDOM.

a) Bei *Oncidium splendidum* findet man, zu Beginn der Reifeteilung, in den Mutterzellen Chondriosome, die arm an Fransen und Tubuli sind; zahlreiche Plasten sind vorhanden, deren Grundsubstanz von sehr klarer Tönung ist und wo man höchst selten oder nie einige Lamellen erkennt. Das sind die nicht-differenzierten Plasten.

In den Mikrosporen und Pollenkörnern haben die Proplasten eine kompaktere Grundsubstanz, wo Fransen vorhanden sind. Dieser Aufbau zeigt einen Differenziationsbeginn.

b) Bei *Aerides houilletianum* existieren zu Beginn der Reifeteilung Funktionsplasten und Chondriosome.

In den Mikrosporen findet man Chondriosome mit zu Haufen zusammengeballten Fransen, sowie Proplasten.

c) Bei *Vanda boshii* beobachtet man, zu Beginn der Reifeteilung, typische Chondriosome und nicht-differenzierte Plasten.

In den Mikrosporen und Pollenkörnern findet man Chondriosome und Plasten, wobei die ersten ein « Elementarkorn » enthalten und die anderen anfangen, sich in körnige Lamellen zu zersetzen.

In den Reproduktionszellen der Pollenkörner aller Arten sind nie weder Chondriosomen noch protoplasmische Substanzen gefunden worden.

5) DIE PLASMODESMEN.

Die Plasmodesmen sind während der verschiedenen Stadien gegenwärtig. Sie entsprechen der klassischen Beschreibung. Man hat jedoch Proplast-übergänge zwischen Zellen festgestellt, und zwar quer durch Wandperforationen, die grösser waren als im Fall der Plasmodesmen.

6) DIE CYTOMIXIS.

Fälle von Cytomixis und Kernextrusion sind zu verschiedenen Entwicklungsstadien der Mikrosporenmutterzellen bemerkt worden. Die gegenwärtigen Beobachtungen legen die Beschaffenheiten dieser Erscheinung genauestens fest.

INTRODUCTION

La structure du noyau a toujours été un sujet de préoccupation pour tous les biologistes. N'est-ce pas là, en effet, que se trouvent les éléments porteurs des caractères héréditaires : les chromosomes ? Leur structure, leur comportement au cours de la division nucléaire et, enfin, leur état durant l'interphase, sont à l'origine d'innombrables recherches et de nombreuses théories, tant de la part des cytologistes eux-mêmes que des chercheurs utilisant des techniques d'investigation autres que l'observation directe du noyau : nous voulons parler des biochimistes et des généticiens dont les spéculations ont quelquefois pris le pas sur les considérations cytologiques pures. Les généticiens et cytologistes russes n'ont-ils pas récemment mis en doute la pérennité des chromosomes, en s'attaquant au point faible de la théorie chromosomique de l'hérédité, à savoir la persistance des chromosomes durant l'interphase ?

En imaginant le chromosome fait d'une paire de filaments enroulés en hélice sur lesquels sont disposés des granules porteurs des unités héréditaires — les chromomères — le tout cimenté dans une matrice, les cytologistes semblaient concilier en un ensemble cohérent les données de l'hérédité et de la cytochimie. Mais l'hypothèse du chromonéma était le résultat de recherches sur les chromosomes « longs » mesurant plusieurs dizaines de microns. L'interprétation des chromosomes petits, les plus nombreux, se faisait par extrapolation.

Les recherches modernes nous éloignent du schéma classique du chromosome. En démembrant la notion de gène en unités plus fines telles que recon, muton, cistron, les généticiens concurent des unités génétiques localisées sur un ensemble linéaire difficilement compatible avec l'idée de chromomères.

Puis les biochimistes isolèrent l'acide désoxyribonucléique (ADN) et donnèrent un modèle de sa molécule, dont le diamètre de la fibrille n'est que de 20 Å. Par les expériences connues sous le terme (défectueux) de mutations dirigées, les microbiologistes prouvèrent que cette substance est le support de l'hérédité.

Les premières recherches au microscope électronique ont été effectuées sur des chromosomes bien connus des caryologistes tels que : chromosomes géants des glandes salivaires des larves de Diptères, « lampbrush chromosomes » de la prophase hétérotypique des ovocytes de certains Amphibiens et les chromosomes longs que l'on rencontre au cours de la méiose, chez certains Animaux et chez certains Végétaux. Elles ont mis en évidence des microfibrilles dont le diamètre est compris entre 100 et 200 Å. Ces micro-

fibrilles sont continues, homogènes, sans renflements. Rien ne rappelle donc le chromonéma et les chromomères de la cytologie classique.

Sur l'évolution même des éléments qui constituent le chromosome normal, ou leur devenir après la division, on ne possède que des informations partielles. Cela se comprend quand on sait la difficulté — l'impossibilité disent certains — de fixer la substance nucléaire et l'ambiguïté d'interprétation des images obtenues. La finesse des coupes, requise par le microscope électronique, fournit des images sans aucune profondeur de champ et place pratiquement l'observateur dans une cytologie à deux dimensions. Or, la cytologie photonique — à trois dimensions — a révélé que le chromosome est un édifice complexe. Enfin, il est souvent difficile de reconnaître le stade auquel se trouve le noyau, car les coupes semi-fines, épaisses d'un micron environ, sont d'une lecture délicate. A toutes ces vicissitudes, communes à tous les cytologistes, s'en ajoute une autre, que connaissent bien les botanistes : la cellule végétale est beaucoup plus difficile à étudier au microscope électronique que la cellule animale.

Nous avons entrepris l'étude au microscope électronique de l'évolution des structures nucléaires au cours de la méiose et de la mitose polliniques des Orchidées parce que nous pensions que deux des obstacles énumérés plus haut pouvaient être tournés : une étude préalable du noyau et de la division nucléaire chez diverses Orchidées nous avait appris que les chromosomes sont petits ; il nous semblait que ce caractère, désavantageux pour l'étude au microscope photonique, pourrait être un avantage pour la microscopie électronique. D'autre part, les éléments nucléaires évoluent au cours de la division d'une façon synchrone, si bien que tous les noyaux sont au même stade ou à un stade très voisin, ce qui permet, à partir d'un fragment d'anthère observé au microscope photonique, de déduire le stade auquel se trouvent les noyaux du reste de l'anthère.

La fixation correcte du noyau se révéla être le point le plus délicat. Deux années de tâtonnements furent nécessaires à sa mise au point ; elle sera exposée en détail dans la partie consacrée aux techniques. Nous en déduisons que la condition d'une bonne fixation réside dans la vitesse de pénétration du fixateur. Si tous les stades de la division du noyau ne furent pas obtenus, les images rencontrées sont cependant en assez grand nombre pour donner un aperçu de l'évolution des éléments nucléaires et permettre d'entrevoir une caryologie à l'échelle macromoléculaire.

Notre Mémoire est divisé en deux parties : étude du noyau d'abord, du cytoplasme ensuite, dans les cellules-mères des microspores d'Orchidées. En observant les cellules-mères, nous avons considéré l'évolution de certains organites cytoplasmiques, en particulier des éléments du chondriome et du plastidome. Leur structure, différente de celle qu'ils possèdent dans les cellules somatiques, est due à la différenciation et il nous a paru intéres-

sant d'en suivre le comportement et de les comparer aux mêmes éléments des cellules somatiques dont la structure est beaucoup mieux connue.

Notre connaissance de la cellule n'est pas arrivée partout au même point d'achèvement. Aussi avons-nous présenté cette étude par appareils ou par unités morphologiques. Dans le chapitre consacré au noyau, nous traitons de la membrane nucléaire, du nucléole, du nucléoplasme et des structures chromatiques, d'abord en interphase, puis au cours de la division méiotique hétérotypique et de la première division pollinique.

Nous divisons l'étude du cytoplasme en : appareil de Golgi, ergastoplasme, pellicule ectoplasmique. Nous avons réuni en un seul chapitre l'étude du chondriome et du plastidome, car la distinction entre les deux catégories d'organites est souvent délicate. Nous avons consacré un chapitre spécial à l'étude des plasmodemes et à leur conséquence : la cytomixie.

Chaque chapitre débute par un exposé historique et se poursuit par l'exposé de nos recherches personnelles. Pour terminer, nous comparons nos résultats à ceux de nos devanciers, principalement ceux qui ont travaillé dans le domaine de la microscopie électronique, sans pour autant négliger les résultats obtenus au microscope photonique ou par d'autres techniques. Notre conception personnelle sera donnée dans les parties où la convergence et l'abondance des résultats permettent de tirer des conclusions.

Avant d'aborder l'exposé de ce travail, nous tenons à exprimer notre bien vive reconnaissance à notre Maître, M. A. EICHORN, professeur à la Sorbonne, qui a accepté de nous accueillir dans son Laboratoire et de diriger nos recherches, cela malgré l'exiguïté de ses locaux. Un contact presque quotidien avec lui nous a permis de bénéficier de toute sa compétence de biologiste et de sa grande expérience de caryologiste. Nous lui sommes redevable de notre vocation de cytologiste et il n'a cessé de nous encourager lorsque nous nous sommes engagé dans la voie, toute nouvelle, de la microscopie électronique. Pour la bienveillance inlassable dont il a toujours fait preuve à notre égard, nous le prions de trouver ici le témoignage de notre respectueuse gratitude.

L'insuffisance des moyens de recherches mis à notre disposition nous a obligé à chercher à l'extérieur de la Faculté des Sciences des conditions matérielles de travail plus adéquates. Nous tenons à remercier deux établissements sans lesquels ces recherches n'auraient pu être entreprises : le Muséum national d'Histoire naturelle et le Collège de France.

Le Muséum national d'Histoire naturelle, qui entretient une inestimable collection vivante d'Orchidées, nous a fourni le matériel nécessaire à cette étude. Nous sommes particulièrement redevable à M. GUILLAUMIN, professeur honoraire au Muséum, qui nous a donné toutes les facilités pour notre tra-

vail et qui s'est chargé de toutes les déterminations ; qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance. Nous dirons notre gratitude à M. HAMEL, professeur au même établissement, pour ses conseils en caryologie, et à M. ROSE, jardinier-chef des Serres, dont la haute compétence horticole nous a été d'un précieux secours.

Le Collège de France, Laboratoire de Médecine expérimentale, nous accueillit dès 1956. Nous évoquerons avec reconnaissance la mémoire du professeur Ch. OBERLING, qui nous accepta dans son service pour y apprendre les techniques préliminaires de la microscopie électronique. Malgré un programme d'utilisation très chargé de son microscope électronique, il consentit à le distraire une demi-journée par semaine à notre profit.

Il nous est agréable d'adresser nos plus vifs remerciements au D^r ROULLER, actuellement professeur à l'Ecole de médecine de Genève, pour le dévouement avec lequel il nous initia à la microscopie électronique et pour la foi qu'il nous communiqua dans cette technique. Nos remerciements s'adressent également à M^{lle} HAGUENAU, sous-directeur, qui nous autorisa, après le départ du D^r ROULLER, à fréquenter le laboratoire pendant une année encore. Elle a bien voulu s'intéresser à nos travaux, et les micrographies de la Pl. 16 publiées dans ce mémoire ont été prises par elle à l'Institut de recherches sur le Cancer de Villejuif, avec un microscope Siemens.

A M^{me} DONTCHEFF, qui nous apprit la technique des coupes ultra-fines et à toutes les personnes du service, nous adressons l'expression de notre gratitude.

A M. le Professeur PLANTEFOL, membre de l'Institut, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et qui a bien voulu présenter nos communications à l'Académie des Sciences, nous tenons à exprimer notre respectueuse reconnaissance.

Nous savons gré à M. le Professeur BUVAT d'avoir bien voulu faire partie de notre jury.

A M^{lle} MATHIEU, biologiste adjointe, nous exprimons notre cordiale sympathie pour l'aide qu'elle nous a apportée.

A tous ceux, camarades et collègues, qui nous aidèrent dans notre tâche, nous exprimons notre gratitude.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Les anthères des Orchidées suivantes ont été examinées en vue d'étudier l'évolution du noyau et du cytoplasme au cours de la méiose et de la première division pollinique.

VANDA amesiana Rchb. f.

DENDROBIUM nobile Ldl.

SACCOLABIUM albo-lineatum Teijsm. et Binn.

AERIDES houilletianum Rchb. f. (1) (*).

DORITIS pulcherrima Lindl.

VANDA boshii (2) (*).

AERIDES falcatum Lindl.

ONCIDIUM splendidum A. Rich. (*).

Ces Orchidées ont été choisies parce qu'elles possèdent une inflorescence en grappe, sur l'axe de laquelle sont étagés des boutons à divers stades de développement, les plus jeunes en haut, les plus âgés en bas. Cette répartition augmente ainsi les chances de trouver les différents stades d'évolution des cellules-mères des microspores. Une étude antérieure au microscope photonique nous avait appris que, dans une même loge de l'anthère, les noyaux des cellules sont, sauf exception, à un même stade de développement, ou du moins à des stades très voisins. Cette particularité est très gênante lorsqu'on étudie l'évolution des structures nucléaires au microscope photonique ; elle nécessite en effet un grand nombre d'anthères pour obtenir les différents stades et ne permet pas toujours de bien distinguer les enchaînements des différentes figures, mais elle se révèle ici très intéressante : un fragment d'une loge d'anthère, traité suivant les méthodes classiques de la caryologie, permet de reconnaître le stade atteint par les noyaux de cette loge. Cette précaution est importante, car les coupes semi-fines (qui ont une épaisseur de un micron environ) prélevées et colorées sont d'une interprétation délicate à cause de leur manque d'épaisseur et de leur faible coloration. Il est donc souvent nécessaire de confronter ces observations. A ces difficultés techniques s'en ajoute une autre : les noyaux présentent un aspect « homogène », différent de celui observé après usage des fixateurs « nucléaires » de la microscopie photonique, même de ceux

(1) Cette espèce nous a été fournie obligeamment par M. LECOUFFLE, Orchidéiste à Boissy-Saint-Léger. Qu'il nous permette ici de lui adresser nos remerciements.

(2) Cette Orchidée provient du croisement de *V. tricolor* $\times$ *V. luzonica*.

(*) Les plantes signalées par un astérisque sont celles qui ont servi à l'illustration dans le cours du Mémoire.

contenant du tétroxyde d'osmium, comme le Flemming faible. Nous discuterons ultérieurement de ce qu'il faut penser de cette apparence.

Toutes les Orchidées citées n'ont pas donné des figures de même valeur. Certaines espèces ont servi seulement à rechercher la meilleure méthode de fixation.

METHODES

Nous ne décrirons pas en détail les formules de fixateurs ni les procédés d'inclusion qui sont employés couramment. Nous indiquerons seulement les méthodes particulières qui ont été essayées avec succès ou les modifications qui ont été apportées aux techniques « classiques ».

FIXATEURS.

Les solutions suivantes ont été expérimentées :

— *Le tétroxyde d'osmium* (improprement appelé acide osmique) à la concentration de 1 à 2 % dissous dans le mélange acétate de sodium-véronal sodique à pH compris entre 6,5 et 7,5, selon la technique de PALADE.

Les recherches en microscopie photonique avaient montré que les fixateurs nucléaires devaient être acides. Contrairement à ce qu'on pourrait attendre, les pH faibles n'ont pas donné, en microscopie électronique, des résultats supérieurs à ceux obtenus avec des solutions neutres ou faiblement alcalines.

— *Le tétroxyde d'osmium* à 1 % additionné de bichromate de potassium suivant la formule de DALTON, à pH variant de 7 à 7,4. Ce fixateur a un pouvoir de pénétration supérieur à celui du liquide de PALADE, mais la fixation est plus grossière. C'est pourquoi nous ne présenterons pas d'images de cellules fixées à l'aide de ce liquide.

— *L'aldéhyde formique* à 1 % dans un tampon acétate-véronal à pH 7-7,5 a toujours donné des tissus grossièrement coagulés. Ces artéfacts proviennent non pas du fixateur lui-même, mais de la déshydratation à l'alcool préalable à l'enrobage dans le méthacrylate.

— *Le permanganate de potassium* à 1 % dans un tampon acétate-véronal suivant LUFT a fourni quelques résultats mais difficilement utilisables, car la chromatine apparaît en négatif.

Les seules fixations satisfaisantes sont celles effectuées avec le fixateur de Palade à 1 %.

Le contraste fut renforcé ou non, soit par l'acide phosphotungstique à 1 % ajouté à l'alcool à 70° pendant la déshydratation, soit par l'acétate d'uranyle à 0,5 % additionné au liquide de lavage suivant la méthode préconisée par RYTER et KELLENBERGER (1958). Ce dernier renforçateur donne un bon contraste ; toutefois certaines cellules montrent des cristaux gênants provenant de la précipitation de l'acétate d'uranyle.

FIXATION.

Différentes méthodes de fixation ont été essayées, car les procédés habituels, qui ont fait leurs preuves ailleurs, nous ont fourni ici des résultats décevants. Par tâtonnement, nous avons réussi à mettre au point une méthode satisfaisante : les anthères ont été disséquées sous la loupe binoculaire, puis les tissus de la loge ont été portés dans un tube de centrifugation et triturés dans le fixateur avec une baguette de verre dont l'extrémité rodée s'adaptait aussi exactement que possible au fond du tube. La dilacération des tissus devait être suffisamment poussée pour dissocier les cellules, mais non excessivement, pour ne pas les léser. Ultérieurement nous nous sommes servi d'un tube de centrifugation modifié suivant l'appareil de POTTER. Les résultats ne furent cependant pas supérieurs à ceux obtenus à l'aide du premier appareil.

Néanmoins le déchet est toujours très grand : une partie des cellules est mal fixée parce que le fixateur ne les a pas atteintes suffisamment rapidement ; une autre est composée de cellules broyées et inutilisables. Une faible partie est intacte et correctement fixée.

INCLUSION A LA GÉLOSE.

Après plusieurs rinçages à l'eau ou au liquide tampon, les cellules sont collectées dans le fond du tube par centrifugation, aspirées à la pipette et déposées sur une lame de verre recouverte de gélose à 2 % additionnée de 2,5 % de formol, suivant la méthode proposée par CHATTON (1923), pour inclure en masse les protozoaires. Les cellules sont rassemblées sur la gélose durcie en petits paquets à l'aide de micro-tiges de verre étiré. Lorsque l'excès d'eau entourant les cellules est évaporé, une goutte de gélose chaude est déposée sur les objets et les enrobe. Après refroidissement, on découpe de petits cubes de gélose contenant les cellules. La suite des opérations se fait comme avec un objet ordinaire.

INCLUSION DANS LA SUBSTANCE PLASTIQUE.

Les objets ont été déshydratés progressivement dans les alcools à 20, 30, 50, 70, 90, 100° puis portés dans un mélange de méthacrylate de butyle 1/4 + alcool 3/4, méthacrylate 1/2 + alcool 1/2, méthacrylate 3/4 + alcool 1/4, et enfin dans deux bains de méthacrylate pur. L'inclusion définitive s'est effectuée dans des petites capsules de gélatine séchées à l'étuve, contenant du méthacrylate de butyle additionné de 1 % de luperco (catalyseur) et prépolymérisé. La polymérisation a été obtenue à l'étuve, à la température de 55-60°. La majorité des préparations ont été traitées ainsi. Il nous est arrivé cependant d'effectuer la polymérisation à la température

de la pièce et à la lumière du jour pendant trois jours. Les résultats ont été satisfaisants.

Les coupes ultra-fines (de 300 à 600 Å d'épaisseur environ) ont été confectionnées au microtome Servall-Porter-Blum soit avec un couteau de verre, soit avec un couteau de diamant (1). Ce dernier seul nous a permis d'obtenir des coupes « fines » dans des cellules à parois épaisses comme, par exemple, les grains de pollen.

Les préparations ont été observées au microscope électronique RCA EMU 3 B (2) fonctionnant à 100 KV (certaines ont été cependant examinées à 50 KV). Les clichés furent pris sur plaques collodium anti-halo de Guillemot.

Des coupes semi-fines ont été prélevées et collées sur lame de verre, débarrassées de leur méthacrylate par un séjour dans le benzène (24 h au moins), puis blanchies dans un mélange alcool à 70° + eau oxygénée. Après traitement suivant la méthode de Feulgen, elles ont été examinées au microscope photonique. Un collodionnage des coupes a souvent été nécessaire pour éviter le décollement.

Avant d'aborder le chapitre consacré à l'exposé de nos recherches au microscope électronique, nous résumerons très brièvement l'évolution des cellules-mères de microspores d'Orchidées d'après les observations au microscope photonique.

Après une période de multiplication, les cellules-mères primordiales passent par un stade de repos, généralement assez court. Puis elles entrent en prophase de division hétérotypique (Prophase I). Les cellules d'une même loge de l'anthere évoluent habituellement d'une façon synchrone. Cependant les noyaux les plus externes sont plus gros et se gonflent de façon appréciable au début de la prophase, tandis que les noyaux plus internes n'augmentent pas de taille et restent petits. Les chromosomes filamenteux s'apparient, puis se raccourcissent fortement pour donner les gemini de diacinèse. Il est toutefois difficile de reconnaître tous les détails qui ont été observés ailleurs, dans les noyaux volumineux utilisés pour les descriptions « classiques ».

A l'anaphase I, les chromosomes géminés se séparent et forment un stock haploïde à chaque pôle de la cellule. Les noyaux se reconstituent, mais aucune membrane pecto-cellulosique ne vient séparer les deux noyaux. Ceux-ci restent peu de temps au repos. En effet, la division équationnelle (division II) intervient rapidement. Les figures de cette phase sont plus rares, en raison de la vitesse avec laquelle la division se produit. L'évolution des éléments nucléaires est difficile à analyser par suite de leur petite

(1) Ce diamant provient de l'Instituto Venezolano de Investigaciones científicas, Caracas.

(2) Microscope appartenant au Collège de France, Laboratoire de Médecine expérimentale.

taille. Il est possible qu'aucune division du chromonéma ne s'effectue au cours de l'interphase et que les chromosomes qui se séparent à l'anaphase II proviennent du clivage des chromosomes au diplotène de la division précédente.

A la télophase II, quatre noyaux sont formés. Les membranes pecto-cellulosiques apparaissent simultanément et délimitent les territoires cytoplasmiques entourant les quatre noyaux. Mais les quatre cellules issues de la division d'une même cellule-mère restent adhérentes ; elles sont enfermées dans une enveloppe commune et forment une tétrade. L'ensemble des tétrades demeure cohérent et constitue la pollinie. Lors de la première division pollinique, deux noyaux s'individualisent dans chaque cellule de la tétrade : les grains de pollen sont alors formés, mais restent groupés par quatre dans la membrane commune (du moins chez les espèces envisagées).

Dans chaque grain de pollen, le noyau reproducteur, le plus petit, se divisera encore une fois dans le tube pollinique, pour donner les deux noyaux des anthérozoïdes. Par contre, le noyau végétatif devient volumineux, perd sa chromaticité et finit par disparaître.

LE NOYAU

Nos connaissances relatives à l'ultrastructure de la cellule ne sont pas également avancées en ce qui concerne les divers constituants, et si les organites cytoplasmiques commencent à être bien connus, il n'en va pas de même pour le noyau. Ainsi peut-on lire sous la plume de POLICARD et BAUD, en 1958, dans leur ouvrage intitulé *Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus* : « Il semble donc prématuré d'envisager la morphologie du noyau sur la base de son aspect au microscope électronique. »

Nous étudierons successivement : la membrane nucléaire, le nucléole, le nucléoplasme et les structures chromatiques. Cette division, commode pour l'exposé des observations, ne doit pas faire illusion, car il faut considérer évidemment le noyau comme un tout.

LA MEMBRANE NUCLEAIRE

I. — HISTORIQUE

A. — La membrane nucléaire au microscope photonique

1) RÉALITÉ DE LA MEMBRANE NUCLEAIRE.

L'étude de la membrane nucléaire au microscope photonique est particulièrement difficile en raison de son épaisseur, inférieure à la limite du pouvoir séparateur du microscope photonique.

L'existence même d'une membrane organisée entourant le noyau a été niée par PISCHINGER (1937). WADA s'est rangé également à cet avis : il regarde la membrane comme une interface purement physique plutôt que comme une membrane différenciée. FREY-WYSSLING (1938) pense que la membrane nucléaire n'est que la partie périphérique densifiée du suc nucléaire.

Cependant, BAUD (1949 *b*) a passé en revue les faits qui prouvent l'existence d'une membrane nucléaire et il montre que si, dans certaines cellules, celle-ci est parfaitement visible « *in vivo* », par contre, dans d'autres, on

ne peut démontrer son existence que d'une manière indirecte. Les expériences de microdissection de CHAMBERS et FELL (1931), en particulier, ont révélé la présence d'une membrane morphologiquement définie, qui s'oppose à la pénétration de l'aiguille et qui peut être étirée. Elle peut même être isolée dans un milieu physiologique et elle montre une relative cohésion.

On voit que nos connaissances sur la membrane nucléaire étaient assez minces et parfois même contradictoires, avant l'emploi du microscope électronique.

2) COMPOSITION CHIMIQUE.

L'analyse histochimique des membranes nucléaires (BAUD, 1949 *a*) par les réactions colorées générales des protides sont positives (réaction xanthoprotéique, réaction de Millon, réaction à la quinone, réaction à la ninhydrine). Elle présente aussi une coloration avec le noir soudan B qui révèle sa nature lipidique ; la réaction de Smith-Dietrich, caractéristique des phospholipides, est positive.

Les membranes nucléaires extraites des broyats de cellules ou de noyaux restent intactes dans les solutions salines, tandis qu'elles se dissolvent dans les solutions de soude et de potasse faiblement concentrées. L'analyse de cette fraction soluble confirme qu'elle est composée d'une partie protéique et d'une partie lipidique, mais elle indique que ces deux fractions sont fortement liées l'une à l'autre. On en conclut que le constituant essentiel de la membrane est une lipoprotéine.

3) TEXTURE.

Le microscope polarisant a fourni quelques résultats difficilement utilisables, étant donné l'impossibilité de différencier nettement la membrane nucléaire des formations cytoplasmiques ou nucléaires qui l'entourent.

B. — La membrane nucléaire au microscope électronique

1) PREMIÈRES RECHERCHES.

Les premières recherches au microscope électronique (CALLAN et TOMLIN, 1950) portèrent sur des fragments isolés et desséchés d'enveloppe nucléaire d'oocytes d'Amphibiens. Elles permirent de constater que l'enveloppe nucléaire était composée de deux couches étroitement accolées.

D'autres recherches, faites sur des Amibes (BAIRATI et LEHMAN, 1952) et sur des oocytes de Triton (GALL, 1954) confirmèrent cette dualité de structure.

2) OBSERVATIONS DE COUPES FINES.

L'observation de coupes ultra-fines précisa la structure de l'enveloppe nucléaire dans des groupes animaux et végétaux très divers. Les résultats ont été consignés dans le tableau 1.

Nous retiendrons que l'enveloppe nucléaire — terme adopté par WATSON (1955) — est composée de deux membranes épaisses chacune de 75 Å. Elles sont séparées par un espace périnucléaire, d'épaisseur variable suivant le matériel. Cet espace est l'objet de trop de variations provoquées soit par les conditions physiologiques, soit par des artefacts de fixation, pour qu'on attache beaucoup d'importance à son épaisseur.

Les coupes diamétrales de l'enveloppe nucléaire des cellules animales montrèrent à de nombreux auteurs que les membranes externe et interne prennent contact l'une avec l'autre à intervalles réguliers, pour constituer des « pores » de 500 à 1.000 Å de diamètre. Mais alors que AFZELIUS (1955), WILLIAMS et KALLMAN (1955), SJOSTRAND (1956), POLICARD et COLLET (1958) pensent que les « pores » ne sont pas de vraies perforations (ils interprètent la ligne sombre traversant diamétralement le « pore », comme la coupe d'un diaphragme), WATSON (1955), WISCHNITZER (1958), BARNES et DAVIES (1959) voient dans les « pores » de vraies perforations.

Chez les Végétaux, les observations de TURIAN et KELLENBERGER (1956) sur les gamètes d'*Allomyces*, de DE (1957) sur les noyaux des poils staminaux de *Tradescantia*, de SAGER et PALADE (1957) sur *Chlamydomonas*, de HASENKAMP (1957) sur les cellules-mères des microspores d'*Agapanthus* et de *Lilium*, de MARINOS (1960) sur les noyaux du méristème racinaire d'*Oxalis* et d'*Allium* et des bourgeons dormants de *Solanum* prouvent que l'enveloppe nucléaire des cellules végétales a une structure analogue à celle des cellules animales.

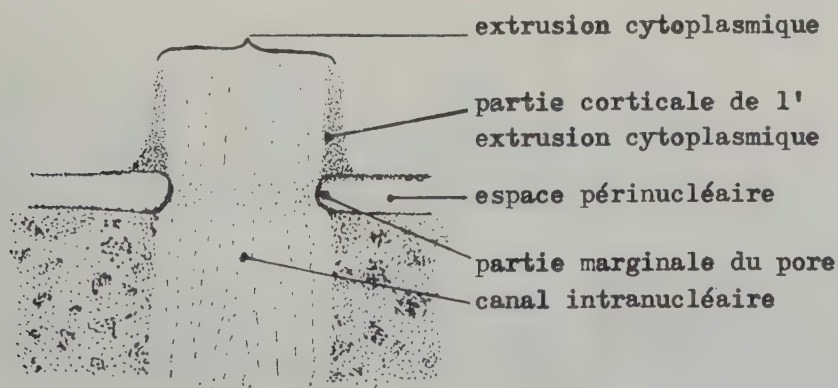


FIG. 1. — Schéma du « pore-complex », en section perpendiculaire à la surface nucléaire (d'après WATSON, 1959). Explications dans le texte.

TABLEAU 1

Taille des différents constituants de l'enveloppe nucléaire
(Les valeurs sont données en Angströms)

Auteur	Espèce	Tissu	Ep. ENVELOPPE NUCLÉAIRE	Ep. MEMBRANE	PORE DIAMÈTRE	ÉPAISSEUR ANNEAU	DIAMÈTRE CENTRE	DISTANCE CENTRE A CENTRE
SjöSTRAND et RHODIN WATSON	Mammifère	Rein	230	4				
		Epithelium langue		60-70				
		Nerf			300			
		Muscle			400			
		Spermatoocyte			500			
		Spermatogonie			700			
		Sarcome			600			
		Parenchyme Foie			400			
		Thyroïde			500			
		Acinus du Pancréas			400			
WATSON 1959		Epithél. de l'estomac						
		} cellules ppales			500			
		} » pariétales			600			
		Différents types			1500			
		de Mammifères						
W. BERNHARD		Cellules de foie			×			
	Embryon de Rat						1000 canal	1500
	Souris	Foie - cellules basophiles et audoiphiles de l'hypophyse		70 à 80	400-650 650-900 700-1000	cell. acidophiles » basophiles » du foie		« Pore-complex ».
KAUTZ et DE MARSH								
	Oiseaux	Embryon de poulet { cellul. sanguines fibroblastes cellules épithé- liales de l'ecto- derme et de l'endoderme	300		800		120	

Coupes ultra-fines.

PORTER (non publié)	Amphibiens Amblystome	Tissus larvaires	×				Observation de frag- ments de membrane.
CALLAN et TOMLIN	<i>Triturus</i>	Oocytes	×	300-500			Observation de frag- ments de membrane. Les anneaux autour des pores sont composés de granules de 300 Å, peut- être de RNA.
GALL	<i>Triturus viridescens</i>	<i>id.</i>	×	1000 à 1200	8 à 10 granules de 400	800-1300	Le tubule est formé par des microcylindres de 175 à 225 Å de diamètre disposés en cercles au- tour de la discontinuité de l'enveloppe.
WISCHNITZER	<i>Triturus viridescens</i>	Oocytes	250-350	75	200-250	400-500	?
CALLAN et TOMLIN	<i>Xenopus</i>	Oocytes	450-500	300-500		300-500	800-1300
POLLISTER et COLL	<i>Rana catesbiana</i>	Oocytes				300-500	
BAHR et BEERMANN	Insectes Chironome	{ Glande salivaire de la larve Intestin moyen	280 300	70-80 70-80	350	500 280	800-900 800-1000
ANDERSON et BEAMS	<i>Rhodnius prolixus</i>	Ovaires	?	400			A. et B. observent le passage de matériel à travers l'enveloppe nu- cléaire.
GAY	<i>Drosophila melanogaster</i>	Glande salivaire de la larve	250		500-600		1000
BRETSCHNEIDER	<i>Hirudo medicinalis</i>	Oocyte Neurone			700		
AFZELIUS	ECHINODERMES <i>Echinus esculatus</i>	Oocytes	315 ± 10	ext. int. 84 88	965 ± 17	ANNEAU 142 ± 12 globule central	Hauteur int. de l'anneau 607 Hauteur externe 210
	<i>Strongylocen- trotus droebachi- ensis</i>	Oufs	343 ± 17	88 90	1034 ± 26	216 ± 26	181 ± 10 604 233

AUTEUR	ESÈCE	Tissu	Ep. ENVELOPPE NUCLÉAIRE	Ep. MEMBRANE	PORE DIAMÈTRE	ÉPAISSEUR ANNEAU	DIAMÈTRE CENTRE	DISTANCE CENTRE À CENTRE	
	<i>Brissopsis lyrifera</i>		330 ± 32	88 91	896 ± 15	254 ± 14	166 ± 13	606	227
	<i>Asterias rubens</i>		306 ± 24	92 97	—	—	—	657	166
	<i>Psannechinus miliaris</i>	Oocyte	390 ± 34	88 90	757 ± 27	209 ± 14	149 ± 1	706	142
	—	Œuf	329 ± 20	79 78	1067 ± 59	304 ± 28	189 ± 29	502	167
	PROTOZOAIRES								
	<i>Amoeba proteus</i>			ext. int. 1000 2000	1200		400	1500	Observation de frag- ments de membrane.
	<i>id.</i>				800		400	1200	
	<i>id.</i>				640				
	<i>id.</i>				800				
GREIDER et COLL PAPPAS LEHMANN	<i>id.</i>		420 2000 A	(membrane + couche en « nid d'abeilles »)				2200-2250	Il existe à la face interne de l'enveloppe une cou- che corticale constituée par la juxtaposition de prismes dont l'épais- seur est de 2800 Å (PAPPAS, 3000 (GREI- DER) et la largeur de 1400 Å (PAPPAS), 2000 Å (GREIDER).
	<i>Euplotes patella</i>	Macronucleus Micronucleus	210 210 calculés	70 70	700 104 observés mais non mesurés		400 (macronucleus)		
	<i>Gregarina melanoplus</i>	parasite	280	80	500 à l'apex. 1500 à l'intér.				Présence d'une couche corticale interne de 900 Å d'épaisseur ; pore en forme de cône.

DE	VÉGÉTAUX	Poils staminaux cellules-mères des grains de pollen { prophase diplot. } diacinèse télé.				
	<i>Tradescantia</i>		310	650	380	1000
GREENWOOD	<i>Vaucheria</i>	Zoospores	×	750		
TURIAN et KELLENBERGER	<i>Allomyces macrogyne</i>	Gamètes	×	950		
SAGER et PALADE	<i>Chlamydomo- nas reinhardtii</i>		200-220 épaisseur calculée	60-70 500		
TURIAN et KELLENBERGER	<i>Allomyces macrogyne</i>	Gamètes	×	950		
SITTE	Pois	Méristèmes radiculaires	180-200	70	710 diam. ext. 320 diam. int.	880
MARINOS	<i>Oxalis pes-caprae Allium cepa</i>	Racines Racines		500-600		
	<i>Solanum tuberosum</i>	Bourgeons dormants				
WHALEY et COLL, MAÏS		Cellules apicales		80		

Parfois petits granules de 90 Å dans la membrane externe et interne à la périphérie du pore.

Il n'est pas certain que le « pore » soit ouvert.

Distribution irrégulière des pores.

Pores ouverts ou présentant un diaphragme.

Membrane externe couverte de particules dens-
ses de 100 à 150 Å.

Continuité avec l'ergas-
toplasme.

Présence d'une couche alvéolaire interne.

Fixation au Permanganate de potassium.

Il n'y a pas de septum, ni d'extrusion cylindrique du pore dans le cytoplasme et le nucléo-
plasme. Liaisons avec l'ergastoplasme.

Les coupes tangentiellles de l'enveloppe nucléaire des cellules animales et végétales montrent des aires en forme de couronne ; elles sont appelées « anneaux » et elles sont mises généralement en relation avec les pores, bien que KAUTZ et MARSH (1955) aient fait des réserves à ce sujet.

La correspondance entre les pores et les anneaux a été interprétée de façon différente : pour WATSON (1955) et HAGUENAU et BERNHARD (1955) l'anneau est la vue en plan de la soudure, tandis que AFZELIUS (1955) et WISCHNITZER (1958) pensent que l'aspect d' « anneau » provient de la coupe d'un tube inclus dans le pore ou prolongeant ses bords.

ANDRÉ et ROUILLER (1956), WATSON (1959) ont effectivement vu dans les coupes diamétrales un matériel granulaire arrangé en cylindre autour du pore (fig. 1, « extrusion cytoplasmique »), mais ils croient néanmoins que la continuité entre les membranes est seule responsable de l'aspect d' « anneau » dans les coupes tangentiellles. WATSON (1959) a donné le nom de « pore-complex » à l'ensemble constitué par le pore et ses formations annexes (fig. 1).

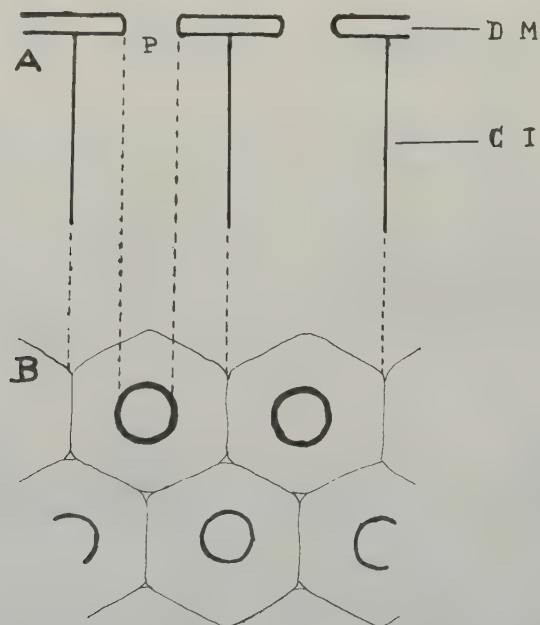


FIG. 2. — Schéma de l'enveloppe nucléaire d'*Amoeba* (d'après PAPPAS, 1956) :

A) En section transversale. DM : double membrane ; CI : couche interne poreuse.

B) En section tangentielle. Les pores P de la double membrane sont localisés au centre des prismes hexagonaux de la couche interne.

LES COMPLICATIONS DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE.

Chez *Amoeba proteus* l'enveloppe nucléaire est constituée par une double membrane (fig. 2, DM) contenant des pores (P). Sur sa face interne, elle est contiguë à une couche poreuse (fig. 2, CI), en « nid d'abeilles », épaisse de 2.800 Å, formée par l'assemblage de prismes hexagonaux ; chaque prisme aboutit à l'enveloppe nucléaire dans un espace au centre duquel se trouve un pore (fig. 2, P) (BAIRATI et LEHMANN 1952, HARRIS et JAMES 1952, PAPPAS 1956, GREIDER et coll. 1956 et 1958). Une disposition analogue a été reconnue chez les Grégarines, Protozoaires parasites, par BEAMS et coll. (1957) et par GRASSÉ et THEODORIDÈS (1957).

Cette structure compliquée n'a été rencontrée jusqu'à maintenant que chez les Protozoaires.

CONCLUSION.

Cette rapide revue bibliographique conduit à concevoir comme suit l'enveloppe nucléaire (fig. 3) : le noyau est entouré par une enveloppe formée de deux membranes limitant un espace périnucléaire (ep) et percée de

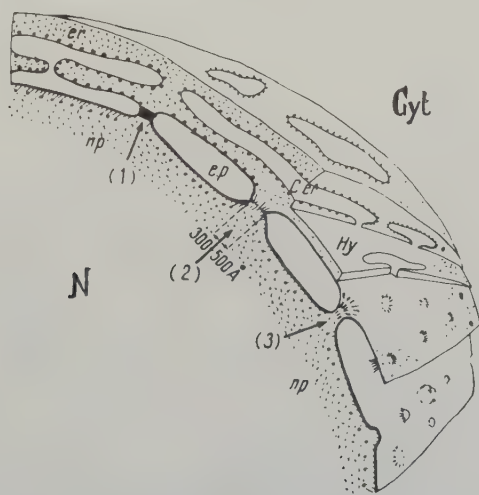


FIG. 3. — L'enveloppe nucléaire chez les animaux (d'après W. BERNHARD, 1959).

L'enveloppe nucléaire est faite de deux membranes séparées par un espace périnucléaire (e.p). Elle est percée de pores ouverts (3) faisant communiquer le nucléoplasme (np.) avec le cytoplasme (Cyt.). Ils peuvent être aussi fermés par un diaphragme (2) ou par du matériel dense (1).

L'espace périnucléaire communique avec les cavités de l'ergastoplasme (C. er). La membrane externe est bordée ou non de grains de Palade.

N : noyau ; Cyt : cytoplasme.

pores. La plupart du temps les pores sont ouverts (fig. 3, « 3 ») ; exceptionnellement ils sont obturés par une cloison mince (fig. 3, « 2 ») ou remplis par un bouchon dense (fig. 3, « 1 »).

Les pores peuvent être complétés par des cylindres qui forment un rebord extérieur au pore.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Structure de l'enveloppe nucléaire des Orchidées

1) LES MEMBRANES ET L'ESPACE PÉRI-NUCLÉAIRE.

Dans les coupes diamétrales du noyau, on voit que l'enveloppe nucléaire est constituée par deux membranes de 50 à 75 Å d'épaisseur, séparées l'une de l'autre par un espace périnucléaire clair de 50 à 100 Å d'épaisseur (Pl. 1 ; Pl. 17, fig. 1, en).

L'ensemble forme une paroi dont l'épaisseur est donnée dans les différentes espèces par le tableau ci-après :

TABLEAU 2

Epaisseur de l'enveloppe nucléaire et diamètre des pores
chez trois Orchidées
(Les épaisseurs sont indiquées en Angströms)

Origine	Epais. enveloppe	Epais. membrane	Epais. esp. péri-nucléaire	Pores	
				Diam. ext.	Diam. int.
<i>Aerides houilletianum</i>	240	75	100	700-1000	300-480
<i>Oncidium splendidum</i>	150-200	50	50-75	700-800	360-500
<i>Vanda boshii</i>	210-240	60-70	95	730	560

2) LES MEMBRANES TRIPLES.

Par places les membranes paraissent triples, sans que l'on puisse incriminer la présence de membranes de l'ergastoplasme (Pl. 6, fig. 1, mt).

Est-ce un exemple de multiplication locale des feuilletts due à une délamination des membranes ? Nous n'avons pas rencontré dans le cytoplasme des lamelles périodiques analogues à celles de REBHUN (1956) ou des lamelles à anneaux de SWIFT (1956). Doit-on penser que l'enveloppe est renforcée en certains points par une troisième membrane ? Dans ce dernier cas, l'enveloppe nucléaire ressemblerait au schéma entièrement théorique donné par

ANDERSON (1953) qui était arrivé à cette interprétation sans utiliser les résultats du microscope électronique.

Nous pensons cependant que l'apparence triple est le résultat de l'inflexion d'une membrane dans le plan de la coupe. On observe alors les deux sections d'une même membrane infléchie qui, ajoutées à la coupe diamétrale de l'autre membrane, donnent l'illusion de trois membranes.

3) LES DÉCOLLEMENTS ET LES VÉSICULES.

Il arrive que l'une des deux membranes se sépare de celle qui lui fait face et que l'espace périnucléaire augmente ainsi d'épaisseur. Tantôt c'est la membrane externe qui serpente dans le cytoplasme (Pl. 2, d), tantôt c'est la membrane interne qui s'infléchit dans le noyau (Pl. 10, grande flèche). Dans les deux cas, l'espace périnucléaire reste clair.

Dans quelques cas, on remarque la présence de vésicules ou de saccules aplatis au voisinage du noyau (Pl. 7, fig. 2, flèches). Elles sont limitées par une paroi formée d'une simple membrane. Leurs rapports avec l'enveloppe nucléaire ne sont pas nets, mais leur situation — au voisinage de l'enveloppe nucléaire — et la présence de traînées osmiophiles partant de la membrane, suggèrent l'existence de liaisons entre elles. La production de vésicules ne se fait d'ailleurs pas uniquement vers le cytoplasme : on l'observe également, bien que plus rarement, dans le noyau (Pl. 1, vésicule cernée de flèches).

4) LES PORES ET LES ANNEAUX.

Sur les coupes diamétrales du noyau, on remarque que les deux membranes de l'enveloppe nucléaire peuvent prendre contact l'une avec l'autre sur une distance variant de 300 à 560 Å (Pl. 1 ; Pl. 17, fig. 1, p). A cet endroit, l'enveloppe nucléaire est marquée seulement par une ligne unique dense. A ces zones, on donne habituellement le nom de « pores ». A l'endroit où les membranes prennent contact, il existe un renflement de l'enveloppe, dû à une augmentation de l'espace périnucléaire (Pl. 17, fig. 1, d). Sur les coupes tangentielles, l'enveloppe nucléaire montre des cercles osmiophiles dont le diamètre varie de 400 à 1000 Å (Pl. 4 ; Pl. 31, a). On a généralement donné le nom d'« anneau » à ces formations. Si la plupart sont constituées par un simple cercle dense plus ou moins épais (Pl. 4', « 2 » et « 4 »), on rencontre aussi deux cercles concentriques ou des demi-cercles (Pl. 4', « 1 », « 3 ») parallèles au cercle interne. Dans quelques cas enfin, les « anneaux » sont cernés par des granules denses de 100 à 200 Å environ de diamètre, analogues à ceux qui ont été décrits dans le cytoplasme sous le nom de « grains de Palade » (Pl. 4, flèches).

5) RÉPARTITION DES « PORES ».

Certaines micrographies montrent une grande densité de pores (Pl. 30) ; sur les coupes tangentielles, les distances de centre à centre ne sont que de 120 à 150 m μ (Pl. 4, 30 et 31). Si les écartements demeuraient constants sur toute la surface de l'enveloppe nucléaire, le nombre des « pores » par μ^2 serait de 60 à 100.

Mais d'autres figures présentent des enveloppes nucléaires avec peu ou pas de « pores » (Pl. 5, fig. 2 ; Pl. 6, fig. 2 ; Pl. 7, fig. 1). Les « pores » sont absents du lieu où la chromatine prend contact avec l'enveloppe nucléaire (Pl. 6, fig. 1 ; Pl. 18, fig. 1). La répartition des pores n'est donc pas uniforme sur toute la surface de l'enveloppe.

Cette répartition varie également dans le temps : les endroits où les membranes se décollent sont dépourvus de « pores » [à moins que les liaisons entre les deux membranes ne soient rompues (Pl. 2, d)]. De même, lors de la reconstitution de l'enveloppe nucléaire à la télophase, la nouvelle enveloppe ne possède pas de pores.

B. — Rapports entre l'enveloppe nucléaire et le cytoplasme

1) L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE ET LES GRAINS DE PALADE.

La membrane externe de l'enveloppe nucléaire est « nue » (Pl. 1 ; Pl. 7, fig. 1 et 2 ; Pl. 17, fig. 1). On observe dans le cytoplasme, au voisinage du noyau, des granules denses de 100 Å environ de diamètre ; mais ils ne sont pas spécialement en rapport avec l'enveloppe nucléaire, car on en trouve de semblables dispersés dans le cytoplasme. Cependant, sur les coupes tangentielles du noyau (Pl. 4, flèches), on voit parfois des granules de même taille disposés en cercles ou en rosettes.

Sur la fig. 1 de la Pl. 15, on remarque que l'enveloppe nucléaire est plissée ; au sommet d'une éminence, il existe une accumulation de granules osmiphiles (flèches) en rapport avec une interruption de l'enveloppe nucléaire, comme si les granules étaient émis par le noyau.

2) LES LIAISONS AVEC L'ERGASTOPLASME.

Sur la figure 1 de la Pl. 7, on observe de nombreuses formations de l'ergastoplasme au voisinage du noyau. Tantôt ce sont des vésicules arrondies de 250 à 700 Å de diamètre (doubles flèches) situées dans le prolongement des plis de l'enveloppe nucléaire qui perd de sa netteté à ce niveau (bien visible sur la fig. 2 de la Pl. 7, flèches de gauche). Tantôt ce sont des saccules aplatis orientés d'une façon quelconque (Pl. 3, doubles flèches) ou parallèles entre eux et à l'enveloppe nucléaire (Pl. 21 ; Pl. 22, fig. 1, er).

On observe seulement dans quelques cas particuliers l'existence de rapports entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme ; la membrane externe de l'enveloppe nucléaire est en continuité avec la membrane des saccules de l'ergastoplasme, toujours légèrement dilatés (Pl. 22, fig. 1, double flèche). L'orifice par lequel les saccules entrent en contact avec l'enveloppe nucléaire est, en général, de diamètre assez faible. Quelquefois il peut être beaucoup plus grand (Pl. 6, fig. 1, cerné de flèches).

Les saccules de l'ergastoplasme en liaison avec l'enveloppe nucléaire sont peu développés, si bien que certains peuvent apparaître comme des expansions de la membrane externe.

C. — Rapports entre l'enveloppe nucléaire et la chromatine

1) CONTACTS ENVELOPPE NUCLÉAIRE-CHROMATINE.

La membrane interne de l'enveloppe nucléaire est en contact avec les chromocentres dans les noyaux en repos (Pl. 6, fig. 1 ; Pl. 7, fig. 1 et 2), mais il n'y a pas continuité entre eux. Au niveau du chromocentre, les deux membranes restent nettes ; par contre, elles sont dépourvues de pores.

A l'intérieur du noyau, on n'observe pas de différenciation du contenu nucléaire dans la prolongation du pore.

2) CONTACTS ENVELOPPE NUCLÉAIRE-CHROMOSOMES.

Dans le noyau en division, les rapports entre les chromosomes et l'enveloppe nucléaire sont plus précis. Le chromosome prend contact avec l'enveloppe nucléaire par son extrémité et s'enfonce alors perpendiculairement dans le noyau (Pl. 18, fig. 1, flèches) ou bien il chemine parallèlement à l'enveloppe nucléaire avec laquelle il est en rapport latéralement (Pl. 16, fig. 2, double flèche) d'une façon discontinue. Comme dans le cas des chromocentres, les microfibrilles des chromosomes sont en contact étroit avec l'enveloppe nucléaire, mais celle-ci garde son individualité.

On observe parfois une invagination de la membrane interne en un lieu où elle est en contact avec une extrémité du chromosome (Pl. 10, grande flèche). On pourrait penser que cette disposition permet d'augmenter le contact entre l'enveloppe nucléaire et la chromatine. Mais ces figures sont trop rares pour qu'on puisse généraliser.

D. — Evolution de l'enveloppe nucléaire au cours de la division

1) FORME.

Dans les coupes diamétrales du noyau, on remarque que l'enveloppe nucléaire est très sinueuse avant et au début de la prophase de division hétérotypique (Pl. 1 ; Pl. 7, fig. 2 ; Pl. 8, fig. 1) ; ensuite, son contour se régularise.

2) DISPARITION DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE.

A la fin de la prophase, il se produit une vésiculation de l'enveloppe nucléaire (Pl. 21, flèches). Certaines parties se dilatent pour donner des vacuoles de 2400 à 3600 Å (flèches simples). D'autres ne montrent que de faibles dilatations (250 Å environ de diamètre) qui aboutissent à la fragmentation de l'enveloppe (double flèche). La vésiculation et la fragmentation de l'enveloppe sont donc le prélude à sa disparition.

La désagrégation doit se produire assez rapidement, car les images de ce phénomène sont rares. Par contre, la vésiculation peut commencer tôt (Pl. 2, d).

3) RECONSTITUTION DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE.

La reconstitution de l'enveloppe nucléaire a surtout été observée au cours de la première division pollinique de *Vanda boshii* (CHARDARD 1960 a). Dès la séparation des deux stocks chromosomiques, on remarque, dans le phragmoplaste et autour de celui-ci, de nombreuses petites vacuoles à contenu clair, de 80 à 240 m μ de diamètre, limitées par une paroi mince. On distingue en outre dans le phragmoplaste des vésicules ovoïdes de 20 à 90 m μ à contenu légèrement osmiophile et à parois minces. Nous étudierons dans le chapitre consacré à la plaque cellulaire le comportement de ces vacuoles.

Dans le même temps, de nombreuses vacuoles et vésicules, étroitement accolées à la chromatine, sont rassemblées autour du stock chromosomique, tant du côté polaire que du côté équatorial. Elles sont reliées par des lamelles osmiophiles paires de 70 à 80 Å d'épaisseur, séparées par un espace clair de 80 Å (Pl. 27, flèches ; CHARDARD, 1960 a, fig. 2, flèches). La réunion des vacuoles se produit en plusieurs endroits à la fois, mais le processus de reconstruction est plus avancé sur la face polaire que sur la face équatoriale. Finalement, le stock chromosomique est entouré totalement par une série de saccules qui s'allongent et confluent. A un stade ultérieur, les saccules s'aplatissent de plus en plus et tendent à donner une enveloppe nucléaire d'épaisseur analogue à celle du noyau interphasique ou du début

de la prophase (Pl. 29, fig. 2). Des dilatations (d) marquent encore l'origine de l'enveloppe nucléaire. Mais les phénomènes de reconstitution ne sont pas synchrones sur toute l'étendue de l'enveloppe : celle-ci est déjà totalement reconstituée sur sa face interne, en regard de la cellule végétative (CV), alors qu'elle est incomplète dans sa partie polaire (en bas et à droite de la fig. 2 de la Pl. 29, on perd sa trace). On peut noter que la nouvelle membrane ne possède pas de pores.

III. — DISCUSSION

1) L'ÉPAISSEUR DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE DES ORCHIDÉES.

L'enveloppe nucléaire des Orchidées présente quelques différences d'épaisseur avec celle des Animaux et des autres Végétaux. Mais ces différences proviennent surtout des variations de l'écartement des membranes. Ceci suggère que de nombreuses causes, physiologiques ou artificielles, peuvent intervenir pour faire varier les dimensions de l'espace périnucléaire ; celles-ci sont donc beaucoup trop sujettes à caution pour qu'on leur attribue une grande importance. Le seul résultat intéressant est l'épaisseur des membranes, remarquablement constante dans tous les groupes étudiés, aux erreurs de lecture près (tableau 1).

2) LES PORES.

Les lignes sombres traversant le pore, observées dans les coupes diamétrales du noyau, peuvent faire croire à un diaphragme qui l'obturerait. Cette interprétation a été donnée par AFZELIUS (1955). Mais d'autres auteurs comme WATSON (1955, 1959), WISCHNITZER (1958) et MARINOS (1960) pensent que cette apparence est due au fait que le bord du pore est inclus dans la coupe. Nous croyons aussi que l'ouverture des « pores » est une réalité, au moins à un moment de la vie de l'enveloppe nucléaire. MARINOS (1960) observe cependant un diaphragme dans les pores nucléaires d'*Oxalis*, mais ne constate pas sa généralité. Il est donc permis de penser qu'il existe un diaphragme dû au pincement des deux membranes à une époque donnée de l'existence des pores — lors de leur formation par exemple — et qu'il disparaît par la suite. Cette vue reste entièrement théorique, car on ne sait rien de la genèse des pores. On constate cependant que, lors de la formation de l'enveloppe nucléaire, celle-ci ne présente pas de « pores ». PORTER et MACHADO (1960) remarquent également l'absence de pores sur les membranes de l'ergastoplasme qui entourent les noyaux-fils à la télophase et qui vont reformer l'enveloppe nucléaire.

3) LES ANNEAUX.

Les coupes tangentielles de l'enveloppe nucléaire montrent des cercles osmiophiles de 360 à 840 Å de diamètre. Ils correspondent aux « anneaux » qui ont été observés dans de nombreux groupes animaux et végétaux. Si la présence d'« anneaux » semble générale, par contre leur interprétation est plus délicate.

Nous avons donné dans la partie historique les interprétations différentes de l'aspect d'anneau. Chez les Orchidées, nous avons observé des « anneaux » sur les coupes tangentielles, mais nous n'avons pas vu de « tubes » ou d'« extrusion cytoplasmique » dans les coupes diamétrales. Celles-ci, par contre, nous ont montré qu'au voisinage du pore les membranes nucléaires s'écartent pour former une sorte de bourrelet plus épais que l'ensemble de l'enveloppe nucléaire.

Les coupes tangentielles présentent, en dehors des cercles simples (Pl. 4', « 2 ») — les plus nombreux — des cercles concentriques (Pl. 4', « 1 ») et des cercles excentriques (Pl. 4', « 3 »).

Ces cercles sont trop nets pour être la coupe d'une extrusion cytoplasmique. Nous pensons donc que les cercles représentent la coupe tangentielle à différents niveaux du bourrelet résultant de la soudure des membranes. La figure 4 schématise notre interprétation de l'aspect d'« anneau ».

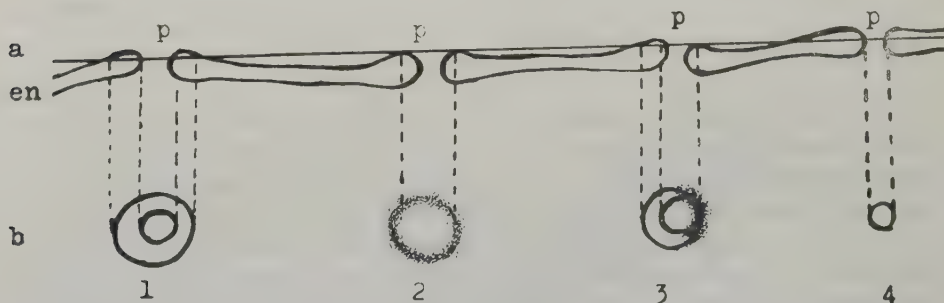


FIG. 4. — Différentes interprétations de l'enveloppe nucléaire (en) des Orchidées.
a) En coupe diamétrale. Les pores (p) sont coupés à différents niveaux par le plan de coupe.
b) En coupe tangentielle. Différents aspects des « anneaux ».

Cette interprétation rendrait compte des différences de diamètre observées : si la coupe tangentielle passe par la partie externe du bourrelet, le diamètre est plus grand que dans le cas où elle traverse la partie médiane. Chez d'autres Végétaux, MARINOS (1960) n'a pas trouvé de « tubes » se surajoutant aux pores.

On peut donc conclure que l'enveloppe nucléaire des Végétaux ressemble beaucoup à celle des Animaux. Elle paraît cependant plus simple et

dépourvue de formations accessoires telles que « tubes », « pore complex » ou couche poreuse en « nid d'abeilles », si tant est que ces structures soient réelles chez les Animaux. Les anneaux sont l'aspect tangentiel des pores.

4) LES DÉCOLLEMENTS.

Nous avons nommé « décollements » les augmentations d'épaisseur de l'espace périnucléaire. Il est permis de se demander si ces écartements de membranes existent sur le vivant. Il se peut en effet qu'ils soient des artéfacts provoqués par les mouvements de l'eau au moment de la fixation. Cela expliquerait la fréquence des décollements chez les Végétaux. Mais ils existent aussi chez les Animaux : POLICARD et BESSIS (1960) ont observé des écartements en demi-lune des deux feuillets de l'enveloppe nucléaire d'un macrophage sous certaines influences pathologiques telles que l'autolyse ou l'hypotonie. La pression osmotique peut certes avoir un effet, mais on remarque que les modifications de l'enveloppe nucléaire sont en rapport avec une activité physiologique du noyau : les décollements augmentent au fur et à mesure que la prophase approche de son terme et on doit mettre ce fait en rapport avec la désintégration de l'enveloppe nucléaire à la fin de ce stade. D'autre part, le gonflement seul n'amène pas un écartement des membranes. Celui-ci ne peut en effet se produire qu'après la rupture des liaisons des deux membranes au niveau des pores.

On pense donc que les décollements sont d'origine physiologique et qu'ils existent sur le vivant.

5) LES VÉSICULES.

Dans quelques cas (Pl. 7, fig. 2, flèches), des vésicules se trouvent au voisinage du noyau. Mais les rapports avec l'enveloppe nucléaire ne sont pas nets. GAY (1956) a observé que, dans les glandes salivaires de *Drosophila*, l'enveloppe nucléaire formait des bourgeons qui peuvent s'isoler par pincement pour donner des vésicules à contenu granuleux et limitées par une double membrane. Elle pense que des substances peuvent passer du noyau vers le cytoplasme par cette voie. MOSES (1956) a également rencontré des plissements du noyau et des vésicules dans leur voisinage dans les spermatocytes primaires de l'Ecrevisse.

Mais les vésicules observées dans le cytoplasme au voisinage de l'enveloppe nucléaire des cellules-mères des microspores d'Orchidées ne ressemblent pas aux « blebs » de GAY ; leurs parois sont seulement faites d'une simple membrane.

Leur interprétation est donc délicate. On peut les considérer comme une évagination de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire qui s'isolait ensuite. Mais il est préférable de les interpréter comme des vésicules de l'ergastoplasme ayant ou non des liaisons avec l'enveloppe nucléaire.

6) LES ÉMISSIONS NUCLÉAIRES.

Nous avons décrit la présence de granules denses dans le cytoplasme, près d'une interruption de l'enveloppe nucléaire (Pl. 15, fig. 1, flèche).

On peut se demander, devant leur localisation, si on ne se trouve pas en présence de granules d'origine nucléaire. Les recherches cytochimiques de BRACHET et de CASPERSSON, entre autres, ont montré que les ribonucléoprotéines (RNP) formées dans le noyau « diffusent » à travers son enveloppe pour constituer les RNP cytoplasmiques. Les expériences faites avec des éléments marqués ont corroboré ces résultats. La présence de granules denses, de taille analogue à celle des grains de Palade, près d'une interruption de l'enveloppe nucléaire, apporterait un argument cytologique à cette hypothèse. ANDERSON et BEAMS (1956) avaient déjà observé au microscope électronique le passage de matériel osmophile à travers les pores dans l'ovaire de *Rhodnius prolixus*. Le cas de la Pl. 15, fig. 1, montre la possibilité, pour certaines grosses molécules, de passer à travers les pores. Mais ces observations, aussi bien chez les Animaux que chez les Orchidées, sont peu fréquentes. On peut s'étonner de la rareté des figures concernant un fait couramment admis par les physiologistes. Aussi doit-on considérer l'enveloppe nucléaire, non comme un « tamis » passif laissant s'échapper les substances sans discrimination, mais plutôt comme un filtre sélectif permettant le passage de substances dans certaines circonstances bien déterminées qui nous échappent au microscope électronique.

Il faut donc admettre que ces substances ne traversent pas directement le pore à la manière d'un liquide passant à travers les mailles d'un filtre. Le transit du noyau vers le cytoplasme requiert sans doute un mécanisme plus compliqué. BENNETT (1956) a émis l'hypothèse d'un déplacement de membrane (« membrane flow ») pour expliquer le transport de particules.

Le caractère statique des observations au microscope électronique ne permet pas de saisir le mécanisme du passage des substances du noyau vers le cytoplasme. Cinq voies semblent possibles :

- 1) par les pores qui peuvent représenter le dixième de la surface nucléaire ;
- 2) par les deux membranes et l'espace périnucléaire qui les sépare ;
- 3) par les liaisons entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme ;
- 4) par l'émission de vésicules ;
- 5) par rhophéocytose (= « membrane flow »).

7) LES RAPPORTS AVEC L'ERGASTOPLASME.

a) Avec les membranes.

Les liaisons entre les vésicules de l'ergastoplasme — abondantes au voisinage du noyau — et l'enveloppe nucléaire ne sont observées que dans

quelques cas particuliers. Chez les Animaux et dans les cellules méristématiques des Végétaux, les communications entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme sont très nettes. Chez le Mais (WHALEY et Coll. 1960) et l'Oignon (PORTER et MACHADO, 1960), les connections entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme sont bien visibles. Mais il faut remarquer que l'ergastoplasme est présent dans ces cellules sous forme de doubles membranes parallèles, ayant une grande extension dans le cytoplasme. Ces membranes représentent des coupes de saccules aplatis et les liaisons entre eux et l'enveloppe nucléaire doivent se faire sur une assez grande longueur. La rareté des figures montrant des communications entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme chez les cellules-mères de microspores d'Orchidées s'explique par le fait que l'ergastoplasme est souvent vésiculaire et que les communications s'établissent par des tubules et non par des saccules aplatis. Les chances pour qu'une coupe comprenne entièrement le tubule sont donc réduites.

b) *Avec les grains de Palade.*

Chez les Orchidées, la membrane externe de l'enveloppe nucléaire est « nue », c'est-à-dire qu'elle n'est pas tapissée de granules denses que l'on considère être des grains de RNP ou grains de Palade. Chez les cellules-mères de microspores d'Orchidées, ces grains sont présents dans le cytoplasme périnucléaire, mais ils sont libres et non pas attachés à la membrane nucléaire, comme chez les Animaux.

Sur la coupe tangentielle du noyau (Pl. 4, flèches) on remarque des granules disposés en cercle ou en spirale autour des « anneaux », analogues à ceux que ANDRÉ et ROUILLER (1956) ont signalés sur l'enveloppe nucléaire de l'ovocyte de l'Araignée. FERREIRA (1959) a observé des granules disposés d'une façon analogue sur les membranes de l'ergastoplasme de cellules du pancréas embryonnaire de Rat. D'après BERNHARD (1959), cette disposition représente une phase importante de la formation de ces granules et serait un argument en faveur de la synthèse des RNP dans le cytoplasme. Cependant leur localisation fait penser qu'ils pourraient être en rapport avec des substances sortant du noyau par « rhophéocytose ».

6) EVOLUTION DE L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE AU COURS DE LA DIVISION.

a) *Forme.*

La forme de l'enveloppe nucléaire varie suivant la phase à laquelle elle est observée : tantôt son contour est sinueux, tantôt il est uni. On peut se demander si ces transformations sont réelles et correspondent à des modifications ayant lieu sur le vivant. Il est possible, en effet, que des artéfacts se produisent au moment de la fixation. Mais ils ont alors une signification,

car les sinuosités de l'enveloppe apparaissent avant la prophase et au début de celle-ci. Il semble, d'ailleurs, que ce soit moins l'enveloppe nucléaire que le contenu du noyau, l'enveloppe ne faisant que se modeler sur lui et le suivre dans sa rétraction.

b) *La disparition de l'enveloppe nucléaire.*

A la fin de la prophase de la division hétérotypique, l'enveloppe nucléaire disparaît par fragmentation et vésiculation.

Sur la disparition de l'enveloppe nucléaire, on en était réduit aux hypothèses : on pensait qu'elle était due à une action enzymatique [HEILBRUN et WILBUR (1937), GOLDSTEIN (1952), LETTRE (1952)]. Cependant ANDERSON (1953), se basant sur la stabilité du noyau dans les homogénats, avait préféré conclure que le composant structural de l'enveloppe est, non pas digéré, mais devient une partie du fuseau, retournant, en fin de division, à sa condition première à l'interface noyau-cytoplasme. Nous verrons à propos du fuseau ce qu'il faut penser de cette hypothèse.

La microscopie électronique apporte quelques éclaircissements. MOSES (1958 c) avait déjà constaté que dans les spermatocytes primaires de *Cambarus* la fragmentation et la vésiculation de l'enveloppe nucléaire sont le prélude à sa disparition. Chez les Orchidées (CHARDARD, 1960 a) et chez l'*Allium* (PORTER et MACHADO, 1960), l'enveloppe nucléaire disparaît en donnant des fragments qui vont se mêler aux éléments de l'ergastoplasme. Cependant, chez les Orchidées, la dislocation de l'enveloppe nucléaire fournit des vacuoles et des vésicules, alors que chez *Cambarus* et dans la racine d'*Allium*, ce sont des saccules aplatis. Cette différence est-elle naturelle ou correspond-t-elle à une migration de l'eau au moment de la fixation par suite d'un manque de tonicité du fixateur ? C'est une question que l'on ne peut actuellement trancher.

c) *La reconstitution de l'enveloppe nucléaire.*

A la suite de leurs recherches au microscope photonique, HUGHES (1952) et SCHULTZ (1952) suggéraient que l'enveloppe nucléaire se reforme en télophase à l'interface entre le cytoplasme et les chromosomes, avec la participation de ces derniers.

Les vacuoles et les vésicules qui sont à l'origine de l'enveloppe nucléaire chez les Orchidées semblent être des éléments de l'ergastoplasme. La présence de l'ergastoplasme a été signalée par BUVAT et PUISSANT (1958) dans le phragmoplaste d'*Allium* et par RUTHMANN (1959) dans le fuseau méiotique de l'Écrevisse.

MOSES (1958 c) a surtout suivi le processus de désorganisation de l'enveloppe nucléaire et la production, à partir d'elle, d'éléments vésiculaires

« ressemblant au système de membranes de l'E. R. » (pp. 230-233). Il admet, sans donner de précision, que le processus inverse se produit quand l'enveloppe nucléaire se reforme.

BARER et ses collaborateurs (1958) chez les Animaux, et surtout PORTER et MACHADO (1960) chez les Végétaux, ont suivi la reconstitution de l'enveloppe nucléaire et ont vu qu'elle se reformait à partir d'éléments du réticulum endoplasmique.

Ces résultats sont en accord avec les recherches faites sur les Orchidées. Cependant les éléments de l'ergastoplasme des Orchidées ont une forme différente de ceux de l'*Allium* étudiés par PORTER et MACHADO (1960). Dans cette dernière espèce, les éléments de l'ergastoplasme se présentent sous forme de saccules aplatis et allongés situés autour des chromosomes télophasiques. Chez les Orchidées on n'observe que des éléments vésiculaires autour des chromosomes. Les membranes paires qui relient les vésicules entre elles semblent être des bourgeonnements de ces vésicules.

Doit-on considérer les vésicules comme un artéfact ou, au contraire, comme des formations existant sur le vivant ? Les arguments sont les mêmes que ceux fournis dans le paragraphe relatif à la destruction de l'enveloppe nucléaire. On doit ajouter en plus que la fixation est différente : chez l'*Allium* la plupart des fixations ont été faites avec du permanganate de potassium, alors que pour les Orchidées le fixateur utilisé est le tétroxyde d'osmium. Or PORTER et MACHADO ont montré que le permanganate de potassium préservait mieux les longs profils que le tétroxyde d'osmium. En l'absence de matériel analogue fixé avec le permanganate, on ne peut préciser si les vésicules existent bien sur le vivant.

Ces recherches au microscope électronique montrent donc que l'enveloppe nucléaire ne naît pas « *de novo* » et qu'elle provient, au moins en partie, de l'ergastoplasme (il faut néanmoins signaler que ce dernier peut naître « *de novo* »).

*
* *

LE NUCLEOLE

GENERALITES

Le nucléole est un organite présent dans la plupart des noyaux. Dans les cellules-mères des microspores, il y en a généralement un ou deux ; sur le vivant, ils apparaissent comme des sphères réfringentes. Les anciens cytologistes ont sous-estimé l'importance du nucléole lors de la division du noyau, sans doute parce que ses modifications sont moins ordonnées que celles des autres constituants du noyau. Il y a déjà vingt ans, les recherches de BRACHET (1940) et de CASPERSSON (1940) ont mis en évidence le rapport

qui existe entre la quantité d'acide ribonucléique (ARN) nucléolaire et l'importance de la synthèse protéique de la cellule. Actuellement, les expériences d'incorporation d'éléments marqués suggèrent que l'ARN nucléaire pourrait être le précurseur de l'ARN cytoplasmique, bien que des réserves soient faites à ce sujet. La structure de cet organite est donc intéressante à connaître.

I. — HISTORIQUE

A. — Le nucléole des animaux

1) ETUDE AU MICROSCOPE PHOTONIQUE.

ESTABLE et SOTELO (1951) avaient observé dans les noyaux de divers tissus animaux (ovocytes d'Invertébrés, cellules nerveuses de Vertébrés, cellules végétales) que les nucléoles comportent deux parties : l'une filamenteuse, ou « nucléolonéma » (appelée ainsi par symétrie avec le chromonéma des chromosomes), toujours présente dans les nucléoles étudiés ; dans le noyau interphasique, elle a l'aspect d'un peloton ou d'une grappe. L'autre, homogène, ou « pars amorpha », dont l'importance est variable suivant les espèces. Les deux auteurs uruguayens pensent que le nucléolonéma se partage équitablement entre les deux noyaux fils, au cours de la division nucléaire.

LETTRE a retrouvé, en 1955, cette structure filamenteuse et il a même avancé que le nucléolonéma contiendrait de l'ADN et la « pars amorpha », de l'ARN. Cependant tous les cytologistes ne sont pas d'accord sur cette dualité de structure du nucléole : SERRA ne croit pas que le nucléolonéma représente une formation permanente du nucléole.

2) ETUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

Au moment même où ces faits étaient établis au microscope photonique, les premières recherches de BORYSKO et BANG (1951) aux U.S.A., et de BERNHARD, HAGUENAU et OBERLING (1952) en France, confirmaient la structure hétérogène et filamenteuse du nucléole. De nouvelles recherches de BERNHARD et coll. (1955) ont précisé la structure des nucléoles à l'aide de coupes ultra-fines dans les tissus normaux et tumoraux de Rat, de Souris, de Lapin et d'Homme. On peut ainsi résumer leur travail : au microscope électronique les nucléoles ont une structure réticulée, faite de filaments anastomosés de 450 à 2000 Å d'épaisseur. A haute résolution, on voit que les filaments sont composés de grains arrondis ou ovalaires, d'aspect dense, de 100 à 150 Å de diamètre, enrobés dans une masse moins contrastée, formée de fines particules allongées, mais mal définies, car elles se situent à la limite du pouvoir séparateur du microscope électronique. La substance

homogène (« pars amorpha »), qui remplit les mailles du réseau, est constituée des mêmes éléments, mais répartis de façon beaucoup moins dense. La similitude d'aspect et de taille des granules de 150 Å avec les grains de Palade, qui sont des agrégats de macromolécules de RNP, la basophilie du nucléole, suggèrent l'assimilation entre le constituant granulaire essentiel du nucléole et les agrégats de macromolécules de RNP.

3) VARIATION D'ASPECT DU NUCLÉOLE.

Dans les micrographies, certains nucléoles ont cependant un aspect homogène qui ne correspond pas à la description donnée ci-dessus. Mais on n'établit pas pour autant deux catégories tranchées de nucléoles, car on trouve parfois dans le même tissu, ou la même cellule, des nucléoles d'aspect homogène ou réticulaire. On peut penser que les nucléoles homogènes sont formés d'une portion amorphe très dense qui masque presque complètement la partie réticulaire, et conclure que, chez les Vertébrés, la présence d'un nucléolonéma paraît presque constante.

B. — Le nucléole des Végétaux

1) LES TRAVAUX DE LAFONTAINE.

Les observations concernant l'ultrastructure des nucléoles des Végétaux sont plus rares. Cependant LAFONTAINE (1958 b) a fait une étude approfondie des nucléoles des cellules méristématiques d'*Allium cepa* et de *Vicia faba* au cours de l'interphase et de la mitose. Il distingue ainsi trois catégories de nucléoles :

a) Ceux qui ont une structure homogène. La substance nucléolaire est constituée par des granules de 100 à 150 Å de diamètre, quoique certaines images lui suggèrent que les granules pourraient être des profils de tubules ou de coupes de fibrilles.

b) Ceux qui sont caractérisés par une écorce dense et un cœur central beaucoup plus clair, avec limite tranchée entre les deux. Ils sont également formés de granules de 100-150 Å, mais répartis d'une façon hétérogène. C'est le type de nucléole le plus fréquemment rencontré chez *Vicia*.

c) Dans cette troisième catégorie, on range les nucléoles dont la structure est intermédiaire entre les deux types cités. Ils sont caractérisés par un gradient de densité qui va en augmentant du centre à la périphérie.

PORTER (1958) a également décrit dans les cellules méristématiques d'*Allium* un nucléole ayant un cortex plus dense et une région interne plus « claire ».

2) LES « FOAMY PARTICLES ».

Dans le nucléole d'*Amoeba proteus*, COHEN (1957) remarque un constituant nouveau : ce sont des particules arrondies ou de forme irrégulière, avec un centre plus clair. Leur taille se situe autour de 140 Å ; il les nomme « foamy particles ».

LAFONTAINE (1958 a) a retrouvé des particules analogues (« dense particles ») dans le nucléole des cellules méristématiques d'*Allium cepa* et de *Vicia faba*. Leur apparence est vésiculeuse (« doughnut-like ») et leur forme variable : arrondie, ovale ou en bâtonnet ; leur taille varie de 70 à 200 Å, avec une moyenne se situant autour de 140 Å. Cependant elles ne sont pas présentes dans tous les nucléoles et les aires les moins denses du nucléole en sont dépourvues. La distribution de ces particules au cours de la mitose varie suivant les espèces. Chez *Allium*, elles existent dans le matériel interphasique. Mais elles disparaissent progressivement au cours de la prophase et réapparaissent à la télophase, dans la substance prénucéolaire dispersée en petites masses entre les bras des chromosomes.

Chez *Vicia*, les particules n'apparaissent que plus tard au milieu de la télophase. PORTER (1958) a confirmé ces observations dans les cellules méristématiques radiculaires d'*Allium*. Leur signification n'est pas connue.

De ces recherches au microscope électronique, on conclut que le nucléole n'est pas limité par une membrane ; chez les Vertébrés, il a une structure réticulaire, avec comme constituant essentiel des granules de 150 Å de diamètre. Chez les Végétaux, si les particules de RNP de 150 Å sont constantes, par contre l'évidence d'une différenciation en « nucléolonéma » et « pars amorpha » est moins nette. Certains auteurs, comme JONHSTON et coll. (1959), la nient. Par contre, on trouve dans quelques nucléoles des particules denses ou « foamy particles », dont la signification est inconnue. Elles subissent un cycle de transformation au cours de la mitose et elles n'ont pas été retrouvées chez les Animaux, à l'exception d'*Amoeba*.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Forme et structure du nucléole dans le noyau interphasique d'*Oncidium splendidum*

1) FORME.

Le nucléole des noyaux interphasiques ou en début de prophase (Pl. 5, fig. 1, nu) apparaît sur les coupes ultra-fines comme un organite à contours régulièrement arrondis ou ovales, mais dépourvu de membrane limitante, dont la taille est de $1,7 \times 1,2 \mu$. Il est compact avec, à l'intérieur, de petites aires légèrement plus claires. A la périphérie, le nucléole prend contact avec la chromatine (doubles flèches) par des régions faiblement en relief.

2) STRUCTURE.

Le nucléole des Orchidées examinées se présente comme une masse dense et apparemment homogène (Pl. 1 ; Pl. 2, nu.). A haute résolution (Pl. 5, fig. 1), on remarque qu'elle est faite d'une grande quantité de traces arrondies, allongées et recourbées. Leur largeur moyenne est d'environ 100-120 Å. Elles sont noyées dans un fond plus clair, sans structure, dans lequel elles sont orientées au hasard. Cependant certains profils sont pairs (Pl. 5, fig. 1, flèche simple).

3) LES « FOAMY-PARTICLES ».

A côté des traces qui viennent d'être décrites, et qui constituent la masse du nucléole, on rencontre quelques particules arrondies ou ovales, très denses, de consistance homogène, réparties au hasard dans le nucléole. Leur taille se situe entre 130 et 250 Å. Elles ressemblent aux « foamy particles » de COHEN (1957) et aux granules denses de LAFONTAINE (1958 a), bien qu'il existe certaines différences. De telles granulations sont présentes non seulement dans le nucléole entier et les fragments nucléolaires épars dans le noyau, mais encore à l'état isolé dans le nucléoplasme (Pl. 1 ; Pl. 5, fig. 1, f).

B. — Evolution de la structure nucléolaire au cours de la division du noyau

1) PROPHASE.

Au repos, le nucléole d'*Aerides houilletianum* est compact, mais au début de la méiose son aspect se transforme : il se creuse dans toute la masse de nombreux espaces clairs (Pl. 30 et 31, ec.) et prend une allure spongieuse.

Son contour change également et devient fortement irrégulier : à la périphérie, en contact avec le nucléoplasme (Pl. 31), on distingue une zone claire (Pl. 31, zc.) de 120 à 240 m μ traversée par des travées de chromatine (ch.). Ailleurs, des fragments de nucléole se détachent de la masse principale (Pl. 30, flèches) et se dispersent dans le nucléoplasme. Ces fragments sont de taille variable, allant de 240 m μ à la taille d'un granule. On reconnaît cependant leur origine à cause de leur densité. La périphérie fortement festonnée du nucléole indique donc qu'un certain nombre de masses sont prêtes à se détacher.

Chez *Oncidium splendidum*, le nucléole émet également de petites masses qui, libérées, se rapprochent de l'enveloppe nucléaire (Pl. 9 et 10) ; mais l'intérieur du nucléole demeure homogène au début de la prophase.

Vers le milieu de ce stade, le phénomène de fragmentation s'accroît et une grande quantité de granules se dispersent dans tout le noyau entre les filaments de chromatine (Pl. 11, doubles flèches ; Pl. 13, g.).

Chez *Vanda boshii*, à la fin de la prophase, la fragmentation du nucléole est retardée (Pl. 21, nu.), car le nucléole est encore volumineux et compact, avec seulement quelques petits espaces clairs à l'intérieur (ec.).

2) MÉTAPHASE ET ANAPHASE.

À la métaphase et à l'anaphase, il n'y a pas de corps qui puisse faire penser à un reste de matériel nucléolaire persistant durant cette période.

3) TÉLOPHASE.

À la télophase II d'*Aerides houilletianum*, de petits paquets de substance plus dense que celle qui constitue les chromosomes se forment à la périphérie de ceux-ci. Ils ressemblent beaucoup, par leur propriété de diffracter les électrons, au matériel nucléolaire (Pl. 33, fig. 1, flèches). Leur structure est difficile à décrire en raison de leur compacité. Elle semble granulo-fibrillaire.

C. — Contacts chromatine-nucléole

La planche 5, fig. 2, montre un nucléole avec une dépression (d.) en forme de coupe, dans laquelle est logée une substance filamenteuse moins dense que le matériel nucléolaire : la chromatine (ch.).

Ailleurs, à la périphérie du nucléole, des travées formées de fibrilles de chromatine prennent contact en de multiples points avec le nucléole (Pl. 5, fig. 1, doubles flèches). Mais dès qu'elles l'atteignent, on perd leur trace, en raison de l'osmiophilie des filaments nucléolaires, et on ne peut savoir si la chromatine se prolonge à l'intérieur.

Dans les espaces clairs qui existent dans le nucléole interphasique, ou dans ceux qui sont démasqués lors de la division, on remarque la présence d'un matériel légèrement dense, d'aspect semblable à celui qui existe dans le reste du noyau (Pl. 21 et Pl. 31, ec.).

III. — DISCUSSION

1) LA MEMBRANE NUCLÉOLAIRE.

La plupart des cytologistes classiques et les premiers observateurs au microscope électronique avaient nié l'existence d'une membrane nucléolaire. Cependant, certains auteurs, comme DURYEE (1950), parlent d'une membrane nucléolaire dans les œufs d'Amphibiens. De même CHAYEN (1952) avait décrit une membrane (« skin ») autour du nucléole des cellules du méristème racinaire de *Vicia faba*.

L'observation des coupes ultra-fines de nucléoles d'Orchidées montre sans contestation possible l'absence de membrane nucléolaire.

2) COMPARAISON ENTRE LA STRUCTURE DU NUCLÉOLE DES VÉGÉTAUX ET DES ANIMAUX.

Les nucléoles des Animaux semblent caractérisés par la présence d'un nucléolonéma, les nucléoles homogènes étant alors interprétés comme formés d'un nucléolonéma dont la trame est remplie par une matrix dense.

Au cours de la division, les nucléoles homogènes des Orchidées deviennent peu à peu réticulaires. Mais la vacuolisation accompagnant ce phénomène se produit au hasard plutôt que dans des lieux prédéterminés et ne paraît pas impliquer l'existence d'un nucléolonéma. La disparition du nucléole au cours de la prophase ressemble à une désintégration qui se produit aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur du nucléole.

SERRA (1955), d'ailleurs, ne croit pas à l'existence d'un nucléolonéma comme formation permanente du nucléole. Chez les Orchidées nous n'avons jamais vu, au cours de la division, un nucléolonéma se diviser et passer dans les noyaux fils.

3) COMPARAISON DES NUCLÉOLES DES ORCHIDÉES ET DES AUTRES VÉGÉTAUX.

a) *Texture.*

Le nucléole des Orchidées est homogène et correspond au premier type de LAFONTAINE (1958 b), observé chez *Vicia faba*. Au cours de la division il devient spongieux. Mais cette vacuolisation se fait dans toute la masse et le nucléole ne ressemble pas pour autant aux nucléoles décrits dans le deuxième type, dans lequel il y a un cortex dense et un cœur plus clair. Les espaces clairs qui apparaissent dans le nucléole semblent se former au hasard et non par disparition d'une « pars amorpha » dans les mailles d'un réseau préformé.

La texture du nucléole n'est donc pas fixe. Au cours de la division elle subit de profonds changements et passe du type homogène au type alvéolaire. Son aspect dépend surtout de l'état physiologique du noyau. D'après

DERMEN (1933), la vacuolisation est un des phénomènes les plus importants observés dans le matériel nucléolaire vivant ou fixé.

b) *La structure du nucléole des Orchidées.*

Nous avons décrit dans le nucléole des Orchidées des traces arrondies, allongées ou recourbées. Nous pensons qu'elles sont dues à des fibrilles denses, très contournées, dont le plan de coupe n'intéresse qu'un segment très court. Les profils pairs peuvent être interprétés soit comme des fibrilles paires, soit comme des coupes de tubules.

La présence de fibrilles dans le nucléole des Orchidées est à première vue assez surprenante. La plupart des auteurs qui ont décrit la structure du nucléole au microscope électronique parlent de « granules ». LAFONTAINE (1958) est cependant plus réservé et n'est pas éloigné de notre interprétation : « Favorable pictures suggest that these apparent granules are profiles of tubules or possibly of paired fibrils of smaller diameter. »

Cependant on ne peut les assimiler au « nucléolonéma » des cellules normales ou tumorales, qui a une épaisseur de 450 à 2.000 Å, c'est-à-dire une taille très nettement supérieure à celle des fibrilles des nucléoles d'Orchidées. Par contre, la taille des granulations constituant le nucléolonéma des noyaux animaux (100 à 150 Å) se rapproche assez du diamètre des fibrilles.

Nous ne nommerons donc pas les fibrilles du nucléole des Orchidées nucléolonéma, car ce terme risquerait de créer une confusion : il pourrait en effet désigner le tout ou la partie. Aussi appellerons-nous les traces observées dans le nucléole des Orchidées : « fibrilles nucléolaires ». Il n'est d'ailleurs pas exclu de penser que les filaments puissent être des chaînettes de granules accolés. BERNHARD et ses collaborateurs (1955) notent du reste en parlant des granules : « Ils s'accolent les uns aux autres formant parfois de courts bâtonnets... »

Les micrographies de nucléoles isolés d'embryons de Pois présentées par JOHNSTON et ses collaborateurs (1959) montrent une structure filamenteuse évidente lorsqu'ils ont été débarrassés de leur matrix par le traitement subi. SITTE (1959), par contre, qui a également examiné des coupes de nucléoles de Pois, conclut à des alignements de granules : « Reihenweise Anordnung der globulären Elementen. »

SATIMARU et YOSHIZAWA (1959) ont observé que le nucléole est de texture filamenteuse, après freezing-drying. Il faut accorder une grande importance à ces résultats, car la méthode connue sous le nom de « freezing-drying » est un procédé de fixation purement physique qui tue rapidement les cellules sans que l'on ajoute au milieu cellulaire aucun réactif qui puisse altérer les structures. Il est encore peu utilisé, car son application est délicate (MULLER, 1957) en particulier chez les cellules végétales où l'eau contenue dans les vacuoles détruit l'organisation cellulaire. Mais c'est certainement un procédé d'avenir.

4) LES « FOAMY PARTICLES ».

Nous avons décrit dans les nucléoles d'Orchidées des particules arrondies ou ovales, denses, pleines, de 130 à 250 Å de diamètre. Nous les avons nommées « foamy-particles » parce qu'elles ressemblent aux granules décrits sous ce nom par COHEN (1957) dans les nucléoles d'Amibe. LAFONTAINE (1958 a) a rencontré des granules semblables dans les nucléoles d'*Allium cepa* et de *Vicia faba*, et il les a appelés « granules denses ».

Les particules observées dans le nucléole des Orchidées diffèrent cependant des formations décrites par ces deux auteurs : alors que les « foamy particles » et granules denses montrent un cœur plus clair, comme s'il s'agissait de sphères coupées par leur milieu (« doughnut like »), les particules rencontrées chez les Orchidées sont homogènes.

Quelle est la signification de ces particules ? LAFONTAINE (1958 b), qui a observé leur évolution au cours de la division d'*Allium cepa* et de *Vicia*, émet l'hypothèse que ce serait un matériel prénucléolaire autour duquel la fraction la moins dense du nucléole viendrait se condenser durant la télophase. Il admet que ce matériel prénucléolaire pourrait ne pas exister sous une forme particulaire dans le noyau vivant, mais se condenser en granules à la suite des diverses manipulations.

Bien que ces particules semblent être le lot des nucléoles des Végétaux et des Protozoaires, on ne peut exclure l'hypothèse d'un artéfact.

5) LE NUCLÉOLE ET L'ORIGINE DES RIBONUCLÉOPROTÉINES.

Les recherches cytologiques de CASPERSSON font penser que le nucléole est à l'origine des RNP du noyau et du cytoplasme. On a pu constater la dispersion de la substance nucléolaire dans le noyau des Orchidées. SWIFT (1959) signale également que l'ARN se trouve non seulement dans le nucléole, mais aussi dans les particules interchromatiques, dans le foie du Rat. En effet, après traitement à la ribonucléase, la densité du nucléole et des substances interchromatiques est réduite.

L'évidence du passage direct de matériel nucléolaire du noyau dans le cytoplasme est plus difficile à obtenir. Dans le cas de la fig. 1, Pl. 15, on remarque bien la présence de granules denses près d'une interruption de l'enveloppe nucléaire. Mais de tels exemples sont rares, aussi bien chez les Orchidées que dans les espèces animales ou végétales examinées jusqu'à maintenant. Cela n'exclut pas le passage de matériel nucléolaire par voie indirecte. Nous avons discuté de cette question dans le chapitre relatif à l'enveloppe nucléaire (cf. p. 42).

En dévoilant dans le nucléole des granules de taille et d'aspect analogues à ceux des grains de Palade du cytoplasme, que l'on sait être maintenant des amas de macromolécules de RNP, les premières recherches au microscope électronique semblaient avoir donné une base ultra-structurale à

un problème histochimique. Mais tous les auteurs ne sont pas d'accord sur l'origine des RNP. Ainsi BERNHARD (1959) pense que, au moins dans les tissus des Vertébrés, le cytoplasme posséderait une certaine indépendance.

La question de l'origine nucléolaire des molécules de RNP du cytoplasme n'est donc pas encore résolue par les recherches au microscope électronique. Elle est encore compliquée par la découverte de la structure filamenteuse du nucléole. D'autre part, la forme des RNP du cytoplasme vivant est encore trop sujette à conjectures pour qu'on puisse établir leur origine d'après des rapprochements de forme.

6) LES INCLUSIONS INTRANUCLÉOLAIRES.

Nous avons observé au microscope photonique, à de nombreuses reprises, la présence d'inclusions Feulgen + dans les nucléoles des cellules-mères des microspores d'Orchidées. Leur interprétation est toujours très délicate. En effet, avant d'indiquer que ce sont des inclusions intranucléolaires, il faut s'assurer que ce ne sont pas des invaginations du nucléole contenant de la chromatine. Dans les cas les plus favorables, il nous semble que ce sont bien des inclusions situées à l'intérieur du nucléole. EICHORN (1929) et PY (1936) avaient déjà signalé la présence de granulations Feulgen + dans le nucléole d'*Iris germanica*, d'*Hyacinthus orientalis*, d'*Allium cepa* et d'*Elodea canadensis*. MULNARD (1956) a également remarqué des inclusions Feulgen + dans les nucléoles de quelques larves de Diptères. Peut-on rapprocher ces observations du fait que les espaces clairs situés dans la trame du réseau (Pl. 30 et 31, ec.) contiennent une substance d'aspect analogue à la chromatine et doit-on voir là la chromatine associée au nucléole, dont parle CASPERSSON ? LETTRÉ (1955) a remarqué la présence d'ADN dans la partie filamenteuse du nucléole (nucléolonéma), alors que la « pars amorphe » contiendrait l'ARN. Cette dernière observation demanderait confirmation.

7) L'ORIGINE DES NUCLÉOLES.

a) *Recherches au microscope photonique.*

Le problème de l'origine des nucléoles a été envisagé à plusieurs reprises par les cytologistes, et il ne peut être question de passer en revue tous les travaux. Nous retiendrons seulement ceux de VAN CAMP (1924) qui signala le premier que le nucléole naît en télophase par fusion des particules nucléolaires. HEITZ (1931) décrivit ensuite chez *Vicia faba* la naissance du nucléole au niveau de la constriction secondaire d'une paire de chromosomes à satellites, lors de la télophase.

Plus tard, MC CLINTOK (1934) démontra que le nucléole naît chez le Maïs, non du filament du satellite, mais d'une partie épaisse et chromatique située

dans son voisinage, à l'extrémité du chromosome proprement dit. Il introduit donc la notion hypothétique « d'organisateur nucléolaire » en rapport avec le chromosome.

b) *Les idées modernes.*

Certains auteurs voient l'origine du nucléole dans la matrice du chromosome tandis que d'autres croient à la persistance du matériel nucléolaire durant la division : ainsi ESTABLE et SOTELO (1955) pensent que le filament ou nucléolonéma constituant le nucléole se déroule durant la prophase, se partage entre les deux noyaux-fils ; FUGII (1954) défend une opinion analogue. Mais RATTENBURY et SERRA (1952) émettent une hypothèse différente : le nucléole prendrait naissance à partir d'une substance pré-nucléolaire qui apparaîtrait sous forme d'une fine enveloppe ou de gouttelettes sphériques sur les chromosomes.

Les résultats de ces recherches sont donc discordants.

c) *Recherches au microscope électronique.*

Le microscope électronique a permis de préciser cette origine. Les travaux sur cette question sont assez rares ; cependant LAFONTAINE voit apparaître entre les bras des chromosomes au début de la télophase de petits corps prénucléolaires, bien reconnaissables par la présence de « dense particles ». Puis ces corps fusionnent pour donner le nucléole interphasique.

Nos résultats sont en accord avec ceux de LAFONTAINE. Les corps denses nettement mis en évidence par leur osmiophilie à la périphérie des chromosomes télophasiques sont des corps prénucléolaires et les masses plus grosses (Pl. 32 ; Pl. 33, fig. 1, flèches), visibles en plusieurs points, proviennent de la fusion de ces corps et sont une étape de la reconstitution du nucléole.

Ces observations ont été faites à un stade assez tardif de la télophase II d'*Aerides houilletianum* : nous n'avons pas eu de stade antérieur chez cette espèce. Mais chez une autre espèce d'Orchidée, *Vanda boshii*, où l'on a obtenu des stades précoces de la télophase, on n'a pas remarqué la présence de corps prénucléolaires.

HEITZ et McCLINTOK avaient montré l'existence d'organisateur nucléolaire dans les chromosomes à satellites. Par contre, on ne connaît que peu de choses sur l'origine des nucléoles dans les noyaux à chromosomes sans satellites, les plus nombreux.

Les recherches au microscope électronique sur les nucléoles d'Orchidées, confirment celles de LAFONTAINE et montrent qu'il n'y a pas d'organisateur nucléolaire dans ces noyaux, c'est-à-dire que la substance prénucléolaire ne se condense pas en certains lieux spécifiques du chromosome, mais qu'au contraire elle naît sur toute la périphérie du chromosome et recons-

titue le nucléole en fusionnant. Ce processus est symétrique de celui qui se déroule à la prophase.

Mais les résultats de ces découvertes sont peut-être encore plus importants. En effet, le chromosome n'agit pas seulement comme organisateur nucléolaire. Il semble en effet que la substance même du nucléole provienne du chromosome. Après l'apparition du matériel nucléolaire, entre les bras des chromosomes, ceux-ci deviennent plus pâles, comme s'ils avaient perdu une substance qui les rendait denses. Dans les chromosomes géants, d'ailleurs, le RNA est localisé à l'intérieur du chromosome.

*
* *

LA CHROMATINE ET LE NUCLEOPLASME

Nous traiterons dans ce chapitre du contenu du noyau, à l'exception du nucléole. Nous étudierons la structure de la chromatine (1), puis celle du nucléoplasme au cours de l'interphase et aux différents stades de la division réductionnelle et de la division équationnelle.

I. — HISTORIQUE

Les recherches effectuées au microscope électronique en vue de connaître la structure du noyau et de la chromatine peuvent être classées en cinq chapitres.

1) RECHERCHES SUR LA STRUCTURE DE LA CHROMATINE DU NOYAU AU REPOS.

PAPPAS (1956) et PAPPAS et BRANDT (1960) ont reconnu dans les granules Feulgen + du noyau d'*Amoeba proteus* et de *Pelomyxa carolinensis* des fibrilles de 120 à 150 Å d'épaisseur enroulées en une hélice dont le diamètre est de 300-375 Å. Ces fibrilles peuvent d'ailleurs se subdiviser en deux sub-unités de 75 Å.

2) ETUDE DES CHROMOSOMES AU COURS DE LA DIVISION.

AMANO et ses collaborateurs (1956) établirent qu'au cours de la mitose des cellules sanguines de Souris, le chromonéma résulte du triple enroulement d'un filament très fin (20 à 30 Å) appelé par eux « protochromonéma »

(1) Le terme de chromatine est assez ancien puisqu'il a été créé par FLEMMING en 1879, mais il a été diversement interprété. Nous l'emploierons dans son sens le plus fréquent de substance constitutive des chromosomes ou du réticulum destiné à les former. Elle donne une coloration rouge caractéristique après la réaction de Feulgen et sa localisation est celle de l'ADN.

qui, en s'enroulant en hélice, donne le « subchromonéma », lequel s'enroulant à son tour en hélice forme le chromonéma. Le rapport qui existe entre ces différentes hélices est fourni par les schémas des fig. 5 et 6. Les diamètres des hélices figurent dans le tableau ci-dessous :

Chromosomes	500 $m\mu$	440-480 $m\mu$
Chromonéma	100-120 $m\mu$ en contraction	60 $m\mu$, 30-35 $m\mu$ déroulé
Subchromonéma	26-30 $m\mu$ en contraction	13 $m\mu$ déroulé
Protochromonéma	2-3 $m\mu$	

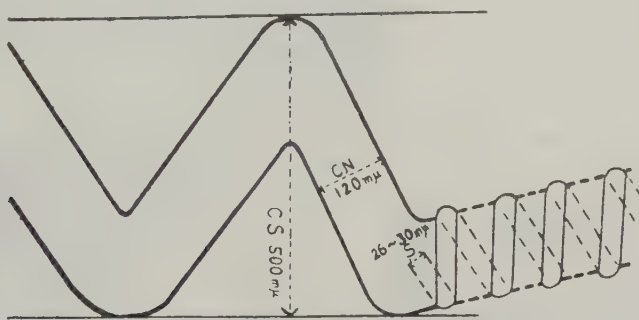


FIG. 5. — Schéma montrant les relations qui existent entre le chromosome (CS.), le chromonéma (CN.) et le subchromonéma (S : 26-30 $m\mu$) dans une cellule de la rate de Souris. (D'après AMANO et coll., 1956).



FIG. 6. — Schéma de la répartition du chromosome (CS.), du chromonéma (CN.), du subchromonéma (S.) et du protochromonéma (P.) : A) en coupe ultra-mince ; B) modèle d'un chromonéma. (D'après AMANO et coll., 1956).

BOPP-HASSENKAMP (1958) a étudié l'évolution de l'ultra-structure du noyau au cours de la méiose des cellules-mères de microspores de diverses Mono-

cotylédones. Elle rencontre des fibrilles de différentes tailles qui l'amènent à une conception du chromosome peu différente de celle d'AMANO et de ses collaborateurs. Elle pense qu'une subfibrille de 20 à 30 Å de diamètre subit quatre ordres d'enroulement pour donner le chromosome de méiose.

3) RECHERCHES SUR LES CHROMOSOMES « PARTICULIERS ».

Les chromosomes « particuliers », déjà bien étudiés au microscope photonique, ont été également l'objet de recherches au microscope électronique. Les « chromosomes géants » des glandes salivaires de Diptères ont été décrits par BEERMANN et BAHR (1954), LOWMANN (1956) (fig. 7), GAY (1956), KAUFMAN et McDONALD (1956) et YASUZUMI (1957). Les « lampbrush chromosomes » furent observés par DURYEE (1950), TOMLIN et CALLAN (1951), GUYENOT et DANON (1953), GALL (1954) et RIS et LAFONTAINE (1958).

Les chromosomes des Périдиниens, qui ont la particularité de demeurer spiralés à l'interphase, furent étudiés par GRASSÉ et DRAGESCO (1957).

Ces recherches ont montré que ces chromosomes contenaient des fibrilles de 70 à 200 Å d'épaisseur.

4) RECHERCHES SUR LA SPERMIOGENÈSE DES ANIMAUX.

Les cellules reproductrices de différents Animaux ont été souvent étudiées au cours de la spermiogenèse par de nombreux auteurs, parmi lesquels nous retiendrons GRASSÉ et ses collaborateurs (1956 b) et RIS (1959). Les fibrilles chromatiques sont, à ce stade, particulièrement nettes. Leur diamètre se situe aux environs de 100 Å. Mais RIS a trouvé que les fibrilles pouvaient se diviser en deux sub-fibrilles de 40 Å.

5) ORGANISATION PARTICULIÈRE DE LA CHROMATINE.

Si l'état fibrillaire de la chromatine semble être le cas le plus fréquent, il n'est cependant pas général. Ainsi RUDZINSKA (1956) a observé, dans le macronucléus du Cilié *Tokophrya infusionum*, des corps Feulgen + qui, au microscope électronique, montrent une organisation alvéolaire en gâteau de miel. CAMEFORT (1959) a retrouvé une disposition analogue dans l'osphère de *Pinus laricio*.

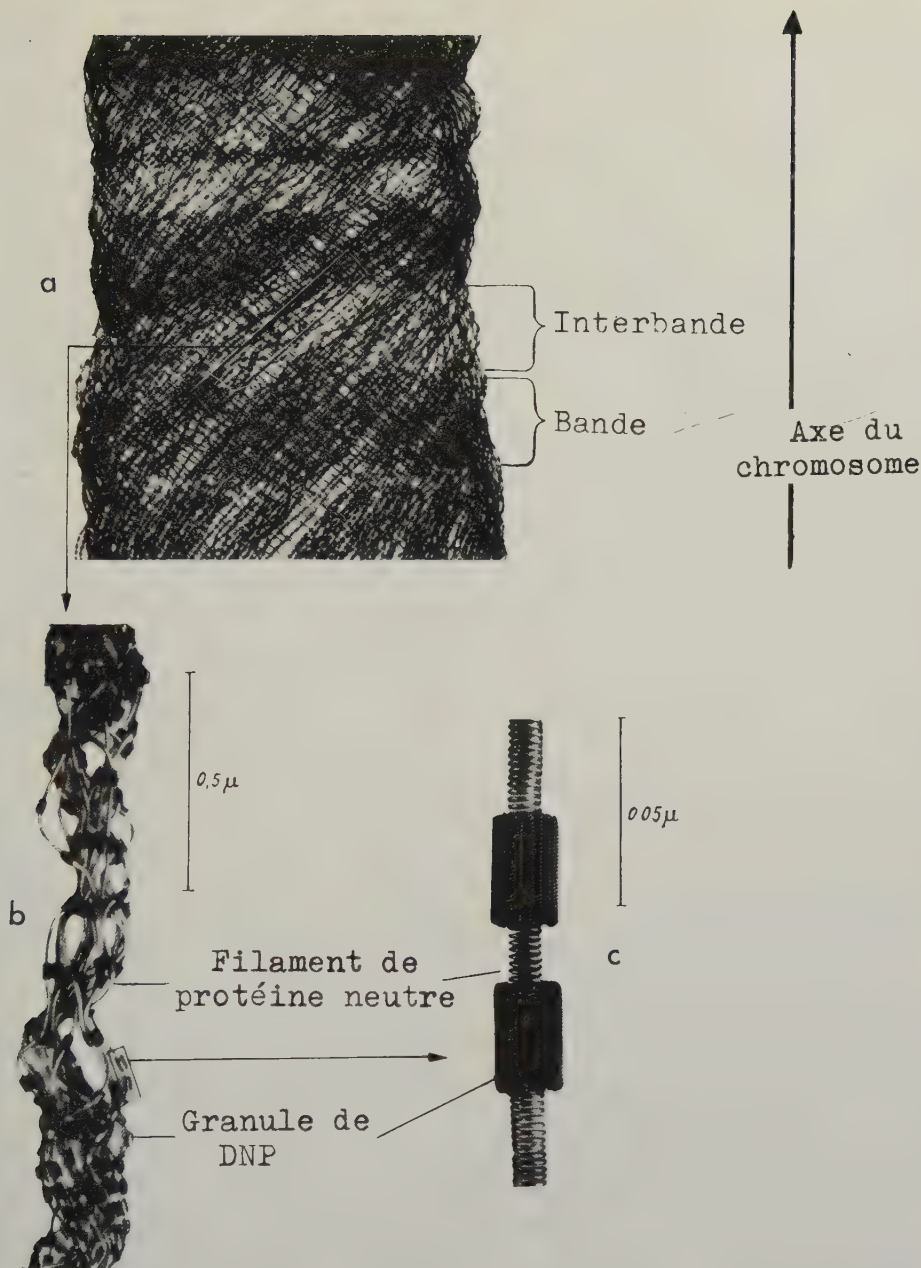


FIG. 7. — Schéma d'un chromosome géant de glande salivaire de *Drosophila* (d'après LOWMAN, 1956).

a) Aspect général ; le chromosome est composé de filaments tordus ensemble à la façon d'un câble.

b) Détail d'une portion de chromosome : les filaments sont faits de protéine neutre et de granules de nucléoprotéine, très nombreux dans les bandes, plus espacés dans les interbandes.

c) Détail d'un filament avec son granule de nucléoprotéine.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

LA MEIOSE

A. — La préprophase chez *Oncidium splendidum*

1) OBSERVATION AU MICROSCOPE PHOTONIQUE.

L'examen au microscope photonique des coupes témoins colorées suivant la méthode de Feulgen révèle une organisation discrète des filaments, caractéristique du stade préprophasique. On doit ajouter que ces noyaux présentent un plus grand nombre de caractères les apparentant au noyau interphasique qu'au noyau prophasique.

Le noyau d'*Oncidium splendidum* est du type dit « réticulé-chromocentrique ». Le réseau est très fin et les chromocentres sont volumineux.

2) OBSERVATION AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

a) Aspect général.

Dans les images topographiques de cellules, le noyau apparaît, au microscope électronique, comme une masse granuleuse et grisâtre, sans structure bien apparente, si ce n'est le nucléole très dense, quand il est intéressé par la coupe.

Un examen à un plus fort grossissement montre que le noyau n'est pourtant pas homogène : en effet, sur le fond, se détachent des régions légèrement plus denses. Deux cas peuvent se présenter :

Dans l'un (Pl. 7, fig. 1), les régions plus denses forment des travées généralement arrondies ou allongées suivant la direction de la coupe, dont la taille est comprise entre 100 et 300 m μ . Entre elles, on distingue un fond clair, apparemment sans structure.

Dans l'autre (Pl. 6, fig. 1), des grosses masses denses, de forme mal définie, se détachent à la périphérie du noyau, contre l'enveloppe nucléaire. On y rencontre des régions légèrement plus claires. Dans le reste du noyau, on trouve des travées correspondant à celles décrites dans le cas précédent.

b) Structure.

À fort grossissement (Pl. 6, fig. 1) on voit que les travées (tr) et les masses périphériques (cm) sont constituées d'un grand nombre d'éléments osmiophiles en forme de points, de bâtonnets, de virgules, très fortement serrés les uns contre les autres, dont la taille est comprise entre 60 et 150 Å. Leur forme suggère qu'ils appartiennent à des fibrilles très sinueuses dont

une faible portion seulement est intéressée par la coupe. Généralement les coupes de fibrilles sont disposées de façon quelconque. Mais, dans quelques cas favorables, on remarque que les fibrilles coupées sur une plus grande longueur sont perpendiculaires à l'enveloppe nucléaire (Pl. 6, fig. 1, grandes flèches). Ailleurs, on rencontre des segments dont la succession suggère que les fibrilles pourraient être enroulées en hélices (Pl. 6, fig. 1, doubles flèches).

Les travées sont composées de segments osmiophiles de même taille que celles qui existent dans les masses périphériques ; mais on ne remarque aucun alignement de segments.

Entre les travées, on distingue un fond nucléaire plus clair : le nucléoplasme, dans lequel on observe, à fort grossissement, une substance finement granuleuse ou fibrillaire dont la taille des éléments se situe à la limite du pouvoir séparateur du microscope électronique. De ce fond clair émergent des particules denses, de forme irrégulière, sans rapport avec les formations décrites (Pl. 1, d). Ailleurs, on observe des granulations osmiophiles qui s'apparentent, par leur taille et leur aspect, aux « foamy particles » du nucléole (Pl. 5, fig. 2, doubles flèches).

B. — Début de la prophase : le synapsis

1) OBSERVATION AU MICROSCOPE PHOTONIQUE.

Les coupes adjacentes à celles observées au microscope électronique, débarrassées de leur méthacrylate et colorées suivant la méthode de Feulgen, montrent des travées épaisses colorées en rose pâle sur un fond nucléaire plus clair. Nous avons interprété ce stade comme un synizesis ou première contraction.

Le premier stade de prophase hétérotypique que nous avons observé est la première contraction, car nous n'avons pas eu de noyaux bien fixés au leptotène.

2) OBSERVATIONS AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

a) Les « formations axiales ».

La Pl. 12 présente la coupe d'un noyau contenant une section longitudinale assez importante de chromosome, ainsi que trois sections transversales. Les bords du chromosome ne sont pas nets et il est souvent difficile de lui assigner des limites exactes, car il est entouré de matériel ayant la même densité (surtout en haut et à droite). Par contre, autour de la formation double (fd), on fait mieux le départ de ce qui appartient au chromosome, car le matériel chromatinique est plus sombre que le matériel interchromosomique.

Si les limites du chromosome ne sont pas toujours nettes, par contre son axe est bien reconnaissable dans les sections longitudinales (Pl. 12, A) et transversales, par sa densité et sa largeur (300 à 400 Å). Autour, formant la masse même du chromosome, on observe dans les sections transversales des segments de fibrilles disposées radialement autour de l'axe (Pl. 12, « 1 » doubles flèches). Dans les sections longitudinales, les fibrilles semblent s'échapper perpendiculairement à l'axe (Pl. 12, flèches). Leur diamètre est de 50 à 100 Å ; certaines sont raccordées à l'axe central et prennent contact avec lui perpendiculairement. Il n'y a pas de limite tranchée entre l'axe et les fibrilles qui l'entourent (Pl. 12, flèches). Les formations sont particulièrement nettes et denses quand la coupe passe par leur axe ; par contre, quand la coupe est tangentielle à ces formations (endroits marqués X), on distingue une accumulation de fibrilles de même aspect et de même taille que celles qui constituent le chromosome, comme si la formation axiale était due à une accumulation de fibrilles.

Dans la figure 2, Pl. 6, on remarque un autre exemple de formation axiale simple coupée obliquement (fs). Les fibrilles sinueuses (flèches) sont perpendiculaires à l'axe situé au centre (double flèche). A la périphérie du chromosome, on trouve quelques granulations denses (g).

b) *Les formations axiales doubles.*

Nous avons observé également des formations axiales doubles qui peuvent coexister dans le même noyau, avec des formations axiales simples (Pl. 12, fs et fd).

Les formations doubles (fd) ont une largeur de 1.000 à 1.500 Å et sont situées au centre d'une zone constituée de fibrilles de 50 à 100 Å, qui forment le chromosome.

Les parties latérales de la formation double sont séparées par une distance de 500 à 700 Å et leur structure est analogue à celle des formations simples.

La partie médiane est cependant plus homogène que les régions latérales.

Les axes de ces parties latérales sont parallèles. Mais le plus souvent on ne peut les suivre, car ils sont discontinus (Pl. 11, fd). Il faut donc penser que la formation entière a un cours onduleux et que chacune des formations simples qui la compose change fréquemment de plan.

Dans les coupes de noyau vues à faible grossissement (Pl. 10), on constate que les formations simples (fs) et doubles (fd) existent dans des travées isolées, tandis que les grosses masses de chromatine (ch) en sont dépourvues.

c) *Cas particulier.*

Sur la Pl. 15, fig. 2, la formation double (fd) a ses deux axes situés dans le plan de la coupe, à gauche. Par contre, à droite, un seul axe est visible. On observe alors à cette extrémité des segments obliques par rapport à l'axe principal de la formation, ce qui suggère que l'axe s'enroule en hélice et que les segments observés sont une coupe à travers les spires. La fig. 1 de la Pl. 16 montre un enroulement analogue, bien que moins régulier.

C. — Les stades post-synapsis

Ces stades ont été observés principalement chez *Vanda boshii* et accessoirement chez *Oncidium splendidum*.

1) OBSERVATIONS AU MICROSCOPE PHOTONIQUE.

Dans les préparations témoins, on observe des noyaux aux stades pachytène, diplotène et diacinèse. En l'absence d'indication formelle du stade, il devient difficile de faire des séparations tranchées, d'autant plus que l'évolution des constituants nucléaires est continue ; ce n'est que pour faciliter l'exposé des phénomènes que l'on a reconnu un certain nombre de stades. D'autre part, aucune description de ces stades n'a été faite au microscope électronique.

C'est donc un enchaînement logique des diverses figures que nous avons essayé de réaliser, en proposant, pour la commodité de l'exposé, un nom pour chaque figure observée.

2) OBSERVATIONS AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

a) *Morphologie des chromosomes.*

Le pachytène. — Sur la figure 2 de la Pl. 16, on distingue dans le noyau des sections longitudinales (en bas et à gauche) ou presque transversales (à droite et au centre) des filaments chromosomiques assemblés par paires. Ces filaments (ch) sont très denses et séparés l'un de l'autre par un sillon S. Le bord de certains filaments allongés est, non pas lisse, mais festonné (flèches).

Le diplotène. — Dans les descriptions classiques de la méiose, ce stade est caractérisé par la séparation des chromosomes jusque là jointifs, sauf en certains points d'union appelés « chiasmas ». Entre ces points, les chro-

mosomes forment des boucles. C'est à ce stade également que l'on observe le clivage.

Chez les Orchidées, ces caractères sont difficiles à mettre en évidence au microscope photonique, en raison de la petite taille des chromosomes.

Au microscope électronique, différentes figures ont été attribuées par nous au diplotène.

Sur la figure 2 de la Pl. 18, on voit la boucle d'un chromosome ch_1 séparé de son homologue ch_2 dont on n'aperçoit qu'un court segment. Le chromosome ch_1 possède des crénelures disposées à intervalles réguliers (flèches). A l'intérieur du chromosome, on remarque, de place en place, des espaces clairs (ec) dont certains contiennent une granulation dense (gd). Dans la partie droite du chromosome, deux espaces clairs sont placés l'un à côté de l'autre.

On peut rapprocher cette figure de la Pl. 20, fig. 2. En haut et à droite, on distingue deux chromosomes homologues ch_1 et ch_2 . Le chromosome ch_1 est coupé tangentiellement et on en voit seulement une faible partie. Le chromosome ch_2 a une épaisseur de 250 $m\mu$ et on le suit sur une longueur de 750 $m\mu$. Il présente à l'intérieur des espaces clairs (ec) de 50 $m\mu$ de largeur, assez rapprochés l'un de l'autre, qui suggèrent que le chromosome est divisé longitudinalement en deux filaments (f) de 120 $m\mu$ d'épaisseur. Les bords internes des chromosomes limitant le sillon (S) sont fortement crénelés.

Dans la partie gauche de la même figure, le chromosome situé à gauche montre deux filaments (f) attachés indépendamment à l'enveloppe nucléaire.

La diacinèse. — Ce stade a été observé chez deux espèces d'Orchidées : *Vanda boshii* et *Oncidium splendidum*. Dans cette dernière espèce, les deux chromosomes enroulés dessinent un caducée. L'interprétation de la figure 1, Pl. 14 est donnée dans le schéma de la Pl. 14'. L'espace clair situé au centre des gemini est le sillon (S) qui sépare les deux chromosomes enroulés. Dans chaque chromosome on voit d'autres espaces clairs (ec) qui proviennent de l'espacement entre les filaments du chromosome.

En haut et à gauche de la même figure, on distingue une masse arrondie (A) que l'on peut considérer comme un chromosome coupé transversalement. L'espace plus clair (ec) situé au centre peut être alors interprété comme un axe d'enroulement.

Chez *Vanda boshii*, les gemini de diacinèse ont un aspect différent. Au microscope photonique, les gemini sont représentés par deux petites boules étroitement accolées. L'aspect prémétaphasique des gemini est donc ici l'étape ultime de la diacinèse. Cette phase dure suffisamment longtemps pour qu'on l'observe chez de nombreuses Orchidées.

Au microscope électronique, on distingue les deux chromosomes (ch) du bivalent (Pl. 22, fig. 1) séparés par un sillon (S) de 100 m μ de largeur. Ce sillon est traversé par des fibrilles — ou des groupes de fibrilles — dont la taille varie de 260 à 520 Å (flèche dans le sillon). A l'intérieur même du chromosome, de petits espaces clairs (flèches) permettent de différencier les filaments qui le composent.

Chaque chromosome a une largeur de 650 à 780 m μ . A ce stade, les chromosomes augmentent donc d'épaisseur de façon appréciable ; cet épaississement peut être mis en relation avec le raccourcissement que manifestent alors les chromosomes, mais que l'on n'apprécie pas au microscope électronique, car on n'observe que des segments de chromosome. Le bivalent de la figure 1, Pl. 18, représente une étape sur la voie du raccourcissement des chromosomes en diacinèse. Les parties claires (e) indiquent la séparation entre deux spires successives, marquées par une flèche.

Sur la figure 1 de la Pl. 19, les deux chromosomes homologues ch₁ et ch₂ sont de taille inégale, car ils sont coupés obliquement. Le sillon (S) qui les sépare totalement a ici une largeur de 100 à 120 m μ . Une ligne claire (lc), à l'intérieur de chaque chromosome, les partage en deux moitiés (ici inégales par suite de l'orientation de la coupe) dans un plan perpendiculaire à celui du sillon. Cette ligne claire représente peut-être la liaison entre les deux filaments.

b) *Structure des éléments chromosomiques.*

Les chromosomes sont des masses compactes ; elles diffractent assez fortement les électrons quand le contraste a été renforcé par l'acétate d'uranyle. Leur structure apparaît difficilement, tant leur compacité est grande. Ils sont constitués par un matériel granulo-fibrillaire. Dans quelques cas particuliers (Pl. 19, fig. 1, flèche blanche), on observe des segments sinueux qui permettent de dire que l'on a affaire à des coupes de fibrilles. Sur la fig. 1 de la Pl. 14 (flèches simples), des segments très courts sont alignés et font penser à des coupes de fibrilles enroulées en hélice.

Dans les noyaux fixés par le permanganate de potassium (Pl. 33, fig. 2), les chromosomes (ch) apparaissent clairs sur un fond nucléaire foncé ; en effet, la chromatine n'est pas fixée par le permanganate de potassium ; ce que l'on aperçoit sur la figure est le « fantôme » des chromosomes. L'intérieur des chromosomes n'est cependant pas vide, car on distingue des granules et des fibrilles très fins (flèches courtes) dispersés dans une substance qui reste claire.

En plusieurs points des chromosomes, on remarque des axes allongés de 50 à 100 m μ de largeur (grandes flèches) ; ils sont constitués par un matériel granulo-fibrillaire analogue à celui du nucléoplasme. Ailleurs, à l'intérieur

d'une zone claire, on observe un centre osmiophile de 150 m μ de diamètre que l'on peut interpréter comme l'axe vu précédemment, mais coupé transversalement (doubles flèches).

Dans les noyaux étudiés aux stades post-synapsis, la substance inter-chromosomique apparaît toujours claire après fixation au tétr oxyde d'osmium. Sur les Pl. 18, fig. 1 et 2 ; Pl. 19, fig. 1, le fond nucléaire (np) est même très clair avec quelques granules épars (g) de taille et de forme quelconques.

Sur les Pl. 20, fig. 1 et 2 et Pl. 22, fig. 1, le nucléoplasme (np) contient des traînées de substances osmiophiles, disséminées dans un fond clair.

Sur la figure 1 de la planche 14, le nucléoplasme (np) est constitué de fibrilles dont la taille est à la limite du pouvoir séparateur du microscope électronique et de granulations denses (doubles flèches), souvent situées au voisinage des chromosomes et ressemblant aux « foamy particles » du nucléole.

Dans les anthères fixées au permanganate de potassium, le nucléoplasme apparaît dense. Il est constitué par un matériel granulo-fibrillaire réparti d'une manière homogène entre les bras des chromosomes (Pl. 33, fig. 2).

D. — Métaphase

LES CHROMOSOMES.

Nous avons observé des chromosomes de métaphase I avant leur séparation. Sur la planche 23, trois chromosomes sont vus sous des angles différents. Ce sont des masses compactes, denses, possédant un rétrécissement sub-médian. Mais seul le chromosome situé en bas et à gauche présente l'aspect classique des chromosomes de métaphase I au microscope photonique: On peut donc penser qu'il a été coupé suivant un plan presque perpendiculaire à son axe.

Dans la masse du chromosome, on distingue cependant quelques petits espaces clairs (ec), de forme plus ou moins arrondie, de 300 à 700 Å de diamètre (bien nets sur les planches 22, fig. 2 et 24).

Les chromosomes sont constitués par des traces nombreuses et serrées, paraissant granuleuses à l'intérieur. Sur les bords, certaines sont arrondies, tandis que d'autres ont la forme de bâtonnets, de virgules. Leur largeur varie de 80 à 120 Å. Enfin, la disposition de certaines de ces traces suggère que l'on est en présence de fibrilles enroulées en hélice (Pl. 23, doubles flèches).

La limite supérieure du chromosome situé en haut et à droite de la Pl. 23 n'est pas nette (flèche). Les traces observées semblent appartenir au bord aminci du chromosome. La structure du chromosome y est plus facile à étudier, car la chromatine est vue sous une plus faible épaisseur. On constate qu'elle est faite de fibrilles étendues sur une longueur de 100 m μ .

LE FUSEAU.

Les chromosomes sont plongés dans la substance fusoriale qui, au microscope électronique, apparaît structurée.

On distingue, en effet, des fibrilles allongées de 80 à 100 Å de largeur, souvent disposées par paires (Pl. 23, t) ayant une disposition analogue à celle que présenteraient les parois d'un tubule coupé longitudinalement. Le diamètre de ce tubule serait alors de 240 à 260 Å. On ne peut les suivre sur une grande distance, car l'orientation de la coupe n'est pas favorable. Ces tubules sont abondants localement et il est possible qu'ils soient groupés en faisceaux.

On observe également des fibrilles de même épaisseur zigzagant dans la substance fusoriale (z).

A côté de ces formations, il existe des profils circulaires ou ovales dont le diamètre le plus faible est d'environ 250 Å (Pl. 23, c). On peut les considérer comme des coupes plus ou moins transversales de tubules ou de fibrilles zigzagantes. Sur la Pl. 24, il n'existe que des profils circulaires ou ovales (flèches) qui indiquent que la coupe est perpendiculaire à la direction générale des tubules ou des fibrilles.

On rencontre aussi des granulations denses de 150 à 200 Å de diamètre (Pl. 23, g) groupées en amas dans lesquels se trouvent noyés les tubules. Il ne semble cependant pas que les granules accompagnent normalement les tubules, car sur les sections longitudinales, les tubules sont « nus ».

La substance fusoriale possède aussi des vacuoles (Pl. 23, v), dont la taille varie de 130 à 260 μ . Elles sont limitées par une membrane osmophile et elles ont un contenu clair.

LA MITOSE

Nous avons obtenu les stades suivants de la première division pollinique : métaphase, anaphase et télophase.

La métaphase

Les chromosomes de la métaphase de la première division pollinique (Pl. 25) sont plus grêles et plus longs que ceux de la métaphase I. Mais leur structure est la même. Ils sont en effet formés de traces en forme de points, de virgules, de bâtonnets. Parfois la succession de ces traces suggère qu'elles font partie d'un ensemble géométrique bien défini (CHARDARD, 1960 b, fig. 2 a et c ; à l'endroit désigné par les flèches, on a l'impression d'être en présence de coupes de fibrilles enroulées en hélice).

La substance fusoriale a également une structure comparable à celle du

fuseau de métaphase I. On y trouve des profils allongés ou circulaires, coupes longitudinales ou transversales de tubules (flèches). On distingue aussi des granulations et des vacuoles (Pl. 25, v), ici de petite taille.

L'anaphase

GÉNÉRALITÉS.

L'anaphase est caractérisée par la séparation des chromosomes et leur ascension aux pôles. Au microscope photonique il est facile de différencier l'anaphase de la télophase, par suite de la présence d'une enveloppe nucléaire entourant totalement le noyau.

Le microscope électronique permet de voir que la reconstitution de l'enveloppe nucléaire commence très tôt, dès l'arrivée aux pôles des chromosomes, et qu'elle dure assez longtemps. D'autre part, la plaque cellulaire se forme normalement à la télophase, mais elle est esquissée dès l'anaphase, sous forme d'une rangée de vacuoles et de vésicules (Pl. 26, 27 et 28, pc).

LA STRUCTURE DES CHROMOSOMES AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

Au microscope électronique, les chromosomes forment des masses denses séparées les unes des autres par des espaces clairs (Pl. 27, CR et CV). Les chromosomes anaphasiques sont constitués de traces de 60 à 100 Å de largeur, de formes diverses et généralement plus allongées qu'au stade précédent.

LE PHRAGMOPLASTE ET LA PLAQUE CELLULAIRE.

Dans le phragmoplaste fortement structuré, on distingue des profils allongés (Pl. 26, t) souvent pairs, analogues à ceux qui ont été décrits dans le fuseau de la métaphase I et de la métaphase de la première division pollinique. Si on peut suivre quelques-uns de ces profils sur une assez grande longueur, la plupart présentent un aspect discontinu. Cette apparence semble due à une succession de profils circulaires ou ovales, alignés longitudinalement (Pl. 26, double flèche).

Tous ces profils sont noyés dans une substance légèrement osmiophile contenant des granulations de 130 à 180 Å de diamètre (Pl. 26, g).

Dans tout le phragmoplaste, on observe des vésicules de 50 à 130 m μ de diamètre, à contenu faiblement opaque, ainsi que des vacuoles (v) qui se différencient des vésicules non seulement par leur taille plus grande, mais surtout par leur contenu plus clair.

A l'équateur du phragmoplaste, l'emplacement de la plaque cellulaire (pc) est marqué par l'abondance des vésicules. Leur localisation est soulignée par une plus grande densité de l'espace intervésiculaire, sans qu'on puisse

discerner si elle est due à une substance particulière ou bien à l'abondance des membranes. Il semble seulement que les vésicules soient localisées entre les travées.

A mesure que la division s'achève, le nombre des vacuoles situées à l'équateur du phragmoplaste augmente, ainsi que leur taille. La densité de la plaque cellulaire va en croissant, par suite de la présence de membranes particulièrement serrées au niveau des travées (Pl. 28, tr).

Les vacuoles confluent ensuite en s'étalant perpendiculairement à l'axe du phragmoplaste (Pl. 17, fig. 2, vp). Les vacuoles s'aplatissent, diminuent de taille et montrent un contenu grisâtre, dû probablement à l'apparition de la substance pectique (Pl. 29, fig. 1, vp). Entre elles subsistent des isthmes constitués de profils de l'ergastoplasme (Pl. 29, fig. 1, pd).

On remarquera ici que les Orchidées sont des Végétaux où les cloisons séparant les quatre cellules issues d'une même cellule-mère de microspore apparaissent tardivement et simultanément. On trouve donc, chez les Orchidées, un processus différent de celui qui existe chez la plupart des Monocotylédones, où les cloisons prennent naissance successivement.

Il en résulte que la télophase hétérotypique n'est pas suivie de la formation de la plaque cellulaire. A la télophase homéotypique, les plaques cellulaires s'édifient, non seulement à l'équateur du phragmoplaste, entre les noyaux qui se sont divisés, mais encore entre les noyaux qui résultent de la division précédente.

La télophase

GÉNÉRALITÉS.

Nous avons observé des télophases de la division homéotypique (Pl. 32 ; Pl. 33, fig. 1) et surtout des télophases de la première division pollinique (Pl. 26 ; Pl. 27 ; Pl. 19, fig. 2). Dans ce dernier cas, les phénomènes nucléaires ne sont pas symétriques dans le noyau végétatif et dans le noyau reproducteur.

Au microscope électronique, on constate un desserrement des filaments et un éclaircissement de l'ensemble du noyau.

Nous décrirons successivement l'enveloppe nucléaire et le contenu du noyau.

L'ENVELOPPE NUCLÉAIRE.

Au début de la télophase de la première division pollinique, les deux membranes constituant l'enveloppe nucléaire ont un parcours parallèle et sont séparées par un espace clair de 60 à 75 Å d'épaisseur. De place en place, elles s'écartent brusquement pour former des dilatations atteignant 150 m μ de diamètre (CHARDARD, 1960 a : fig. 3, v) qui finissent par disparaître plus ou moins complètement.

L'enveloppe nucléaire s'est développée au contact des fibrilles des chromosomes ; mais elle présente aussi des rapports avec les formations ergastoplasmiques, rapports de contiguïté, sinon de continuité (Pl. 29, fig. 2, flèches). Lorsque l'enveloppe est totalement reconstituée, elle ne montre pas de pores. De plus, si les deux membranes ont un parcours semblable, elles ne sont pas rigoureusement parallèles. Elles peuvent en effet s'écarter l'une de l'autre. Ces dilatations (Pl. 29, fig. 2, d) sont les vestiges des vésicules dont elles proviennent. Elles s'effacent ensuite totalement.

LE CONTENU NUCLÉAIRE.

Au début de la télophase de la première division pollinique de *Vanda boshii*, on observe dans le noyau reproducteur (Pl. 19, fig. 2) :

a) De grosses masses denses composées de fibrilles contournées de 80 à 100 Å d'épaisseur, qui parfois peuvent être associées par paires (Pl. 19, fig. 2, flèches). Les fibrilles sont groupées en cordons nettement visibles (f), parce que l'enroulement du chromosome est plus lâche. Ici on distingue quatre cordons, séparés par des espaces clairs (ec).

b) Le nucléoplasme.

En télophase, le fond nucléaire est très clair aux électrons. On y trouve seulement des fibrilles dispersées (Pl. 19, fig. 2, doubles flèches) et des granules denses (g).

III. — DISCUSSION

A. — La préprophase

1) LA STRUCTURE DE LA CHROMATINE.

Dans les travées osmiophiles existant dans le noyau de préprophase, nous avons décrit des « traces » en forme de points, de bâtonnets, de virgules. Nous pensons qu'elles représentent des fibrilles dont la coupe n'intéresse qu'un segment très court parce qu'elles sont très contournées.

2) LA TRAME CHROMATINIQUE.

Les observations faites au microscope électronique confirment l'existence d'une trame à l'intérieur du noyau et permettent de préciser sa structure.

La plupart des caryologistes « classiques » pensent que la trame de chromatine provient des chromonémas des chromosomes qui, à l'interphase, se déroulent plus ou moins et s'enchevêtrent. Les chromocentres sont les seules régions où les chromonémas demeurent spiralés à l'interphase. Mais les opinions divergent sur l'interprétation des figures.

Certains cytologistes croient en effet que les filaments constituant le réseau gardent leur individualité et que les « nœuds », responsables de l'état granuleux observé au microscope photonique, sont une illusion provenant de la superposition optique des filaments, situés dans des plans différents.

D'autres, avec DARLINGTON (cité par MANGENOT, 1942, p. 19) pensent que l'aspect granuleux est un artéfact, car : « ... le filament n'est plus assez fort pour résister à l'action des fixateurs et se brise en grains ou segments irréguliers pour former ce que l'on appelle le « réticulum ». »

Les images de microscopie électronique ne permettent pas de reconnaître si l'on est en présence d'un réseau vrai dans lequel les travées seraient anastomosées ou si les travées osmiophiles gardent leur individualité. Mais elles autorisent à interpréter les travées comme des segments du réticulum vu au microscope photonique. D'autre part, les observations cytochimiques ont montré que le réticulum est constitué de chromatine. Celle-ci se présente donc au microscope électronique sous forme de fines fibrilles de 70 à 120 Å d'épaisseur.

Cependant les travées osmiophiles observées sur les micrographies ne sont pas l'équivalent du « réseau » vu au microscope photonique. Leur nombre et leur finesse s'opposent à une telle assimilation. La plupart des travées sont d'une taille située en dessous du pouvoir séparateur du microscope photonique.

Le matériel-témoin fixé par le tétr oxyde d'osmium tamponné suivant Palade, inclus dans la paraffine, coupé au microtome de Minot et coloré suivant la technique de Feulgen, montre des noyaux avec un fond nucléaire teinté d'une façon diffuse en rose. Cette homogénéité est due à la préservation de la structure fine par le tétr oxyde d'osmium et au fait que la coloration de toutes les fibrilles fournit une masse colorée diffuse, par suite de la finesse et de la dispersion des éléments colorés. Après l'action d'un fixateur « classique », même doux comme le Helly ou le Flemming sans acide acétique, un fin réseau est réellement visible.

On peut donc admettre que le réseau vu au microscope photonique résulte d'une agglomération des fibrilles et même des « travées », par suite de l'action coagulante du fixateur.

3) LES CHROMOCENTRES.

Les chromocentres ont été définis comme des segments de chromosomes qui ne se sont pas dés spiralés pendant l'interphase. Au microscope électronique, on constate qu'ils sont constitués par des fibrilles de même aspect et de même taille que celle des travées, avec lesquelles ils sont en continuité. Les chromocentres se différencient seulement des travées de chromatine par un volume plus grand et par la présence de segments dont la disposition

suggère qu'ils proviennent de fibrilles enroulées en hélice. Cette disposition les rapproche de la structure des chromosomes.

HEITZ (1928) a distingué dans le noyau deux sortes de chromatine. Le segment du chromosome qui demeure enroulé à l'interphase (chromocentre) serait formé d'hétérochromatine, alors que le reste du noyau serait constitué d'euchromatine. D'après leur colorabilité avec les teintures cytologiques (hématoxyline), HEITZ a différencié ces deux chromatines dans les chromosomes achevés. D'autres auteurs (DARLINGTON et LA COUR, 1940) ont même soutenu que l'hétérochromatine se distinguait de l'euchromatine par la méthode de Feulgen, par suite de sa charge supérieure en acide nucléique.

Les observations au microscope électronique ne donnent aucun argument en faveur de cette distinction. Les chromocentres ont la même structure, renferment des fibrilles de même aspect que celles des chromosomes. Le microscope électronique ne renseigne pas sur leur composition chimique ; mais on sait que les fibrilles contiennent de l'ADN. Aussi la distinction entre les deux parties du noyau : réseau et chromocentres, si elle se justifie du point de vue morphologique, devient spécieuse quand il s'agit de la structure.

Ces conclusions rejoignent celles des biochimistes. Leur opinion est résumée par cette phrase de LENORMANT (Problèmes d'ultrastructures et de fonctions nucléaires. Exposés actuels de biologie cellulaire, 1959, p. 110) : « C'est ainsi qu'il semble actuellement que la distinction absolue entre hétérochromatine et euchromatine doive être abandonnée et que ces deux termes s'appliquent aux deux extrêmes d'une série continue comportant un grand nombre d'intermédiaires. »

B. — La première contraction

1) LES FORMATIONS SIMPLES.

Le début de la prophase est caractérisé par la présence, dans le noyau, de formations simples et doubles semblables à celles observées chez les Animaux et désignées sous le nom de « chromosomal core » (MOSES, FAWCETT, 1956), puis de « synaptinomal complex » (MOSES, 1958 a) et enfin de « single elementary thread » (SET) qui se transforme en « primary tripartite group » (PTG) (SOTELO et TRUJILLO-CENOS, 1960).

Les formations rencontrées chez les Orchidées sont simples ou doubles. MOSES (1958 a) avait également observé des formations simples, mais il les interprétait comme l'élément latéral d'une formation complexe. Nous pensons qu'il existe des formations simples pour les raisons suivantes :

a) Certaines préparations contiennent un grand nombre de formations simples, nombre plus grand que ne le voudrait la probabilité pour qu'une

formation double soit coupée tangentiellement et ne présente qu'un profil (CHARDARD, 1959, fig. 1).

b) Les sections transversales de ces formations sont simples. L'espace compris entre 1 et 2 sur la Pl. 12 atteint 195 m μ . Il est donc supérieur à celui qui sépare deux axes d'une formation double.

MOSES (1958 b) est revenu sur sa première interprétation, puisqu'il admet que le « synaptinomal complex » provient de l'accolement de deux « chromosomal core ».

SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) ont publié des photographies de noyaux de spermatocytes I de *Laplatacris discolor* contenant des formations simples qu'ils nomment « single elementary thread » (SET).

2) LES FORMATIONS AXIALES DOUBLES.

Chez les Orchidées, les formations complexes sont toujours doubles. FAWCETT, MOSES, SOTELO et TRUJILLO-CENOZ ont observé dans les spermatocytes I des Animaux des formations complexes composées de trois éléments : un central et deux latéraux, plus épais, plus denses. L'ensemble est disposé sur un même plan et donne ainsi l'aspect d'un ruban.

Ces formations diffèrent surtout de celles rencontrées chez les Orchidées par la présence d'un filament central. FAWCETT regarde ce dernier comme une condensation linéaire de matériel à l'interface des éléments latéraux.

Cependant la plupart des auteurs admettent la réalité du filament central, mais décrivent les variations qu'il présente dans le temps et dans les différents groupes.

MOSES (1958 a) pense que l'élément central est provisoire, car il ne l'observe pas constamment. SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) indiquent qu'il manque parfois chez le Poisson *Cnesterodon*, tandis que chez l'Hémiptère *Blaptica dubia*, le filament médian est double et peut même passer à un faisceau de filaments.

3) MOMENT D'APPARITION DES FORMATIONS DOUBLES.

Dans ses dernières publications, MOSES (1958 b) précise le stade : zygotène ou pachytène et il constate que l'apparition du « synaptinomal complex » est concomitant de l'appariement des chromosomes. SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) font débiter plus tôt leur stade d'apparition. Ils estiment que les éléments simples et triples sont caractéristiques des chromosomes préleptotènes.

Le premier stade auquel nous en avons trouvé, chez les Orchidées, est la première contraction (nous n'avons pas eu de noyaux bien fixés au leptotène). Nous pensons que les formations simples sont antérieures aux for-

mations doubles. Il se pourrait, en effet, que les formations simples se différencient très tôt, et constituent des formations doubles par association au moment de la première contraction. La présence de formations simples et doubles dans un même noyau n'exclut pas cette hypothèse. Elle montre, au contraire, que l'on se trouve en période de transition. La planche I appuie fortement l'hypothèse selon laquelle les formations simples s'ébauchent très tôt, en préleptotène ; en effet, dans la partie située en bas et à gauche de la planche I (région marquée fs), les travées de chromatine possèdent des condensations axiales de fibrilles qui rappellent par leur aspect les formations simples, mais elles sont moins denses et moins bien individualisées : *ce sont des formations axiales à l'état d'ébauche* ; ceci est à mettre en parallèle avec le fait que les préparations témoins indiquent un début d'individualisation des filaments.

Ajoutons que BOPP-HASSENKAMP (1959) n'a pas rencontré de formations axiales dans les noyaux de différentes Monocotylédones au stade pachytène. Jusqu'ici, elles n'ont été rencontrées chez les Végétaux que chez les Orchidées et chez les *Begonia* (BUVAT, 1961).

4) LA STRUCTURE DES FORMATIONS AXIALES CHEZ LES ANIMAUX ET LEUR INTERPRÉTATION.

On peut résumer ainsi la structure des formations axiales d'après les travaux de FAWCETT (1956), MOSES (1958 a et b) et SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) : la formation entière a une largeur de 1000 à 1500 Å. Elle a une forme rubannée et elle est constituée par trois filaments denses et parallèles — deux latéraux de 300-350 Å situés à égale distance d'un médian de 100-150 Å — entourés par une masse de fines fibrilles.

Les interprétations les plus importantes de ces formations sont celles données par MOSES (1958 b) et par SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) ; ils sont tous deux d'accord sur l'existence de trois cordons axiaux disposés dans un plan pour former un ruban. Mais MOSES a vu que la formation était entourée par des microfibrilles de 50 à 100 Å de diamètre, allongées perpendiculairement à l'axe du chromosome. Il ne peut dire si le « synaptinemal complex » est Feulgen +, car le pouvoir de résolution du microscope photonique ne le permet pas. Il a cependant observé dans les coupes témoins que ces formations se trouvaient dans la région Feulgen +. MOSES (1958 b) considère que le « synaptinemal complex » est l'unité structurale fondamentale des chromosomes appariés et contient l'ADN. Il interprète donc chacun des éléments latéraux comme un cordon de fibrilles tordues, en continuité avec celles qui entourent le complexe. Dans cette interprétation, chaque cordon représente ainsi un véritable « core ». La réunion des deux cordons constitue un « synaptinemal complex » caractéristique du stade synapsis (fig. 8).

Les observations de GUENIN et GAUTIER (1960) sur les chromosomes de *Blaps mucronata* coïncident avec celles de MOSES.

SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1960) donnent une autre explication des formations triples (PTG) observées dans les spermatocytes primaires : elles représenteraient l'axe d'un seul chromosome ; ils fondent leur hypothèse sur les arguments suivants :

— Les ébauches de l'axe du chromosome apparaissent dès le préleptotène.

— La séparation entre les deux éléments latéraux (700 Å) est trop faible pour être vue au microscope photonique, alors que les deux chromosomes observés au zygotène sont nettement individualisés.

— Ils ont trouvé deux chromosomes associés contenant chacun un PTG (soit au total six filaments) et ils admettent que ces deux chromosomes sont les deux homologues du synapsis. La conclusion qu'ils en tirent est qu'un chromosome possède dans son axe un PTG (fig. 9). Celui-ci représente donc, non pas un complexe de deux chromosomes, mais le cœur d'un seul. On revient ainsi à l'interprétation primitive de MOSES.

5) INTERPRÉTATION PERSONNELLE.

a) *La réalité des formations axiales.*

Quelle que soit l'interprétation donnée, il n'en reste pas moins que les chromosomes possèdent un axe dense, cordon simple dans l'hypothèse de MOSES, triple dans celle de SOTELO et TRUJILLO-CENOZ.

La critique faite habituellement à l'existence d'un tel « core » est sa présence seulement au début de la prophase de méiose. Or nous avons observé, au début de la prophase de la première division pollinique, une formation qui ressemble à une formation dense (Pl. 3, flèche).

De telles formations sont rares, mais elles permettent de penser que les formations axiales ne sont pas des formations spéciales et qu'elles résultent d'une condensation des fibrilles de 50-100 Å. Cette hypothèse, si elle se vérifiait, expliquerait la disparition des formations axiales dans les stades postérieurs au synapsis, par relâchement de la tension qui les maintient serrées.

La densité des formations peut-elle être expliquée uniquement par l'accumulation de fibrilles normalement peu osmiophiles ? Il est possible qu'une autre substance vienne s'accumuler à cet endroit. MOSES (1958 b) n'est pas ennemi de cette solution : « The simplest picture is of a strand (unit axial element) formed by the close association of radiating microfibrils at their origins, possibly with the aid of some other substance such as protein serving as « glue ». »

KAUFMANN et GAY (1960) pensent que la substance qui accroit la densité de



FIG. 8. — Modèle construit pour interpréter les chromosomes de prophase de méiose des Animaux, d'après les observations faites au microscope électronique (d'après MOSES, 1958 b).

A droite : segment de chromosome qui n'est pas encore apparié ; il est formé par un seul élément axial.

A gauche : les chromosomes bivalents montrent le « tripartite complex » et les fibrilles qui lui sont associées.

Les extrémités des fibrilles qui sortent en touffes sont peut-être libres. Mais il se peut aussi qu'elles forment des boucles.

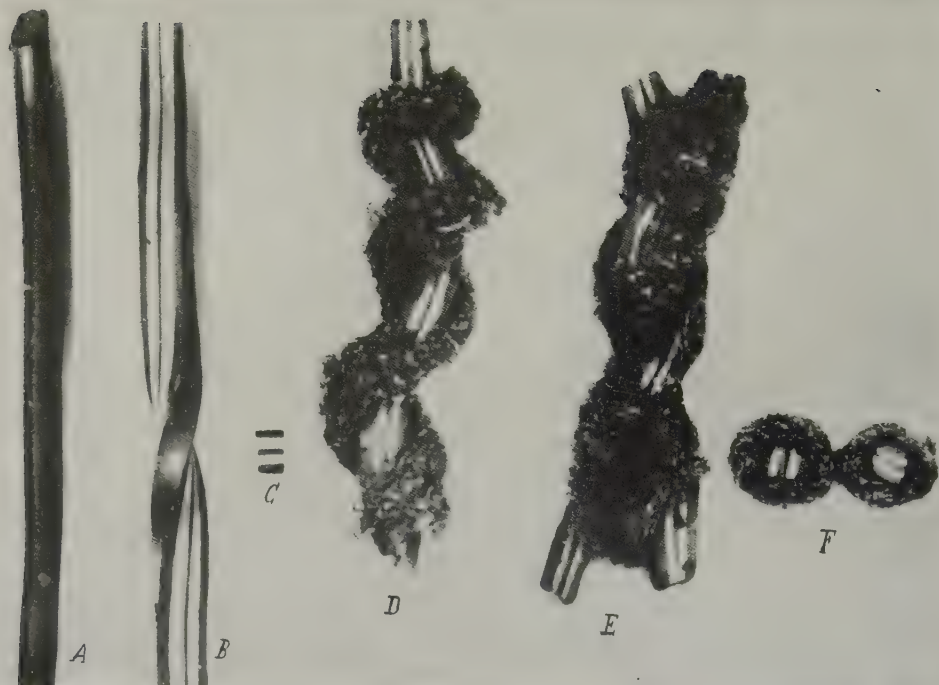


FIG. 9. — Développement des chromosomes de méiose :

A : SET (single elementary thread) ;

B : PTG (primary tripartite group) ;

C : Section transversale d'un PTG ;

D : Modèle d'un chromosome avec son PTG au centre, entouré par des fibrilles de chromatine ;

E : Deux chromosomes homologues sont appariés et enroulés l'un autour de l'autre ;

F : Section transversale des deux chromosomes appariés.

(D'après SOTELO et TRUJILLO-CENOS, 1960).

l'axe pourrait être l'ARN : « ... a substance such a RNA might flow along the pairing face of the homologs, forming dense strands which would then be the outer elements of the synaptinemal complex. »

Nous remarquerons que les formations denses sont nettes quand elles sont isolées ; par contre, les grosses masses de fibrilles n'en révèlent pas (Pl. 10, ch.). Mais peut-être les grosses masses de fibrilles sont-elles des chromocentres dont la chromatine ne s'est pas encore réorganisée en filaments.

b) *Les formations doubles.*

En présence des formations doubles, trois interprétations sont possibles :

1) Elles proviennent d'un dédoublement d'une formation simple. Elles témoigneraient alors d'un processus de division.

2) Elles sont dues à un appariement : c'est le « synaptinemal complex » de MOSES.

3) Elles représentent un « chromosomal core » comme SOTELO et TRUJILLO-CENOZ en ont observé.

Nous allons examiner chacune de ces hypothèses.

La fissuration. — Les mesures de cytophotométrie et la détermination par autoradiographie du moment de la synthèse de l'ADN montrent que la replication est terminée au leptotène chez la Sauterelle (SWIFT et KLEINFELD, 1953) et le Lis (TAYLOR et McMASTER, 1954), au zygotène ou même plus tôt chez *Tradescantia* (MOSES et TAYLOR, 1955). Dans les espèces étudiées, le chromosome du zygotène est déjà fonctionnellement double quand on observe les formations complexes.

Chez les Orchidées, on n'a pas pu distinguer au microscope photonique le moment de la replication des chromosomes. Mais en suivant leur évolution au cours de la méiose, on voit que la division des chromosomes se produit au diplotène et qu'ainsi les formations doubles ne sont pas le résultat de cette division.

L'appariement. — MOSES a observé une concomitance entre la présence du « synaptinemal complex » et le synapsis qui, dans les espèces étudiées par lui, a lieu au zygotène. Chez les Orchidées, comme chez beaucoup d'autres Végétaux, nous n'avons pu mettre en évidence de stade zygotène. EICHORN (1952) a d'ailleurs montré chez les Linaires que l'appariement se produit à la première contraction. Chez les Orchidées, nous avons seulement observé au microscope photonique que les filaments ont, à la sortie du synizesis, une épaisseur double de celle qu'ils possédaient à l'entrée.

La période d'apparition des formations doubles ne s'oppose pas à ce qu'ils soient des « synaptinemal complexes ».

Le « *chromosomal core* ». — SOTELO et TRUJILLO-CENOS (1960) ont fait remarquer que les deux filaments du zygotène sont séparés chez les Animaux par une distance très faible, mais visible cependant au microscope photonique, alors que la séparation entre les deux cordons latéraux du « *synaptinomal complex* » n'est que de 700 Å, donc en-dessous du pouvoir séparateur du microscope photonique.

Cet argument ne concerne pas les Orchidées, ni les plantes à chromosomes petits, car la dualité des filaments n'est pas reconnaissable à ce stade, mais on ne peut le rejeter *a priori*, étant donnée la similitude de taille qui existe entre ces formations chez les Animaux et les Végétaux. On objectera que le sillon séparant les chromosomes au diplotène est du même ordre de grandeur et pourtant on les voit manifestement doubles.

L'examen des stades ultérieurs et le raisonnement *permettent de choisir entre les deux hypothèses* : seule, en effet, la prophase de méiose comporte un appariement, alors que la mitose pourrait montrer aussi bien l'axe des chromosomes, s'il existe, que leur dédoublement. Les formations doubles, observation unique, doivent accompagner un phénomène unique dans la vie du noyau : celui du synapsis.

c) Evolution de l'espace entre les formations doubles.

Aux stades synapsis et post-synapsis, on distingue un sillon de 1000 Å de largeur séparant deux cordons chromosomiques. Il semble bien être la prolongation de l'espace entre les parties latérales des formations doubles, bien que sa largeur soit légèrement plus grande. Les deux cordons placés de chaque côté sont donc les deux chromosomes homologues appariés.

Si l'espace désigné comme un sillon était l'axe du chromosome, les deux parties denses qui l'entourent représenteraient la coupe longitudinale d'un seul chromosome. Mais dans ce cas, aux stades synapsis et post-synapsis, on devrait trouver quatre éléments associés ; or, les figures du noyau au pachytène ne montrent que deux unités (Pl. 16, fig. 2).

Nous pensons que le sillon du pachytène est un espace interchromosomique. Aussi avons-nous adopté la même lettre S pour désigner cet espace au pachytène et au diplotène, entre les deux chromosomes homologues déjà fissurés.

On conclut donc que les deux formations observées au moment de la première contraction résultent d'un synapsis. L'espace qui les sépare évolue pour donner le sillon interchromosomique ; on le suit à travers toute la prophase de méiose. ROTH (1958) également a signalé la présence de deux filaments latéraux et d'un filament médian séparés par un espace clair dans le chromosome métaphasique.

6) LA PREMIÈRE CONTRACTION AU MICROSCOPE PHOTONIQUE.

Les fragments d'une même anthère, fixés au Helly et observés au microscope photonique, présentent, après la réaction de Feulgen, des noyaux avec un fond rouge presque homogène et des grumeaux compacts et fortement colorés. Dans un secteur du noyau existe parfois un faible espace non coloré, situé entre la chromatine et l'enveloppe nucléaire. Les coupes adjacentes aux coupes utilisées en microscopie électronique montrent au microscope photonique, après avoir été débarrassées de leur méthacrylate et avoir été traitées suivant la méthode de Feulgen, des noyaux avec des travées épaisses et colorées en rose-pâle sur un fond nucléaire plus clair. Nous avons interprété ce stade comme un synizésis ou première contraction.

Chez les Orchidées, on observe, en général, une évolution différente des constituants nucléaires suivant leur position dans l'anthère : les noyaux placés à la périphérie sont relativement gros et la prophase se déroule selon les descriptions classiques données pour d'autres Végétaux : au leptotène, les filaments se forment à partir du réseau interphasique dans un noyau qui augmente fortement de volume. Au moment de la contraction, les filaments se tassent à un pôle du noyau, laissant un espace clair assez important (deux à trois fois le volume de la chromatine) entre le peloton des filaments et l'enveloppe nucléaire, espace traversé par les filaments qui vont se réfléchir sur l'enveloppe nucléaire.

À l'intérieur de la pollinie, les noyaux ne montrent qu'un gonflement nucléaire minime au leptotène. À la première contraction, la chromatine se tasse en une masse presque homogène où on ne distingue plus les filaments ; seules quelques travées de chromatine subsistent. Mais la rétraction de la chromatine, bien que visible, est cependant très faible. La masse chromatique est alors hérissée de courtes épines sur la partie libre en regard du décollement : elles sont dues aux filaments qui restent attachés à l'enveloppe nucléaire. Cet aspect du noyau au moment de la première contraction est très constant.

La formation d'un peloton au moment du synizésis a été souvent constatée ; mais un grand nombre de caryologistes attribuent ce tassement à un artéfact provoqué par le fixateur. DARLINGTON, entre autres, estime que l'affaissement des chromosomes au zygotène est dû à la finesse des éléments. DANGEARD, également, pense que « ... il vaut mieux employer un mot nouveau, celui de synizésis, pour cette structure qui, en réalité, est artificielle » (*Cytologie végétale et cytologie générale*, p. 319).

Le moment du synizésis ne peut être déterminé avec précision, car il varie avec les espèces, mais on ne peut nier qu'il existe. EICHORN a montré, en 1950, la valeur très générale de la première contraction et on s'accorde maintenant à la considérer comme une phase particulière de la méiose : c'est le moment de l'appariement entre les chromosomes homologues, chez

les Végétaux. On constate en effet qu'avant la première contraction les filaments sont grêles alors qu'après, au moment du relèvement de la contraction, ils sont épais. On peut admettre que les cordons épais et colorés, observés sur les coupes de 6-7 μ d'épaisseur, sont les lieux d'appariement des filaments homologues.

C. — Les stades post-synapsis

1) LE PACHYTÈNE.

a) Nous pensons que le noyau de la fig. 2 de la Pl. 16 appartient au stade pachytène parce que les éléments observés à son intérieur sont les plus grêles que nous ayons vus dans la phase post-synapsis.

b) Les deux éléments parallèles et séparés par un sillon (S) représentent les chromosomes unis pour constituer le pachynéma. Les figures offrant cette disposition appartiennent au début du pachytène. Au microscope photonique, les observations faites sur diverses espèces de Plantes ont montré que les chromosomes composant le pachynéma sont parallèles.

c) Les bords de chacun des chromosomes sont festonnés. Ceci peut être le résultat soit d'un tassement de l'ensemble, soit d'un enroulement en hélice. La fig. 2 de la Pl. 15 et la fig. 1 de la Pl. 16 donnent du poids à cette interprétation ; on voit en effet les éléments latéraux d'une formation double s'enrouler en hélice sur une partie de leur trajet.

2) LE DIPLÔTÈNE.

a) Les crénelures observées sur la fig. 2 de la Pl. 18 suggèrent que le chromosome (ch_1) est constitué par un (ou peut-être deux) filament (f) enroulé en hélice et coupé par un plan parallèle à l'axe de l'hélice. Les boucles, en déboitant les spires normalement contiguës, permettent de mieux voir leur structure.

b) Les figures 2 des Pl. 18 et 20 montrent la séparation des chromosomes (ch_1) et (ch_2) qui étaient enroulés réciproquement. Entre le stade de début de pachytène, où les chromosomes sont allongés parallèlement l'un à l'autre, et celui du diplotène, se place en effet une phase où l'on observe les deux chromosomes tordus ensemble (enroulement relationnel). De cette phase, nous ne pouvons malheureusement pas donner de figure, car les photos sont abîmées par un dépôt gênant d'acétate d'uranyle.

Pour nous, le sillon (S) situé entre les chromosomes homologues est l'équivalent de l'espace séparant les éléments latéraux des formations doubles.

c) Les espaces clairs (ec) des fig. 2 des Pl. 18 et 20 sont les témoins de la fissuration de chaque chromosome. Cette fissuration a été décrite, au micros-

cope photonique, chez de nombreux Animaux et Végétaux. Cependant certains cytologistes ont émis l'hypothèse que le clivage existait déjà dans le filament leptotène, malgré son apparence simple ; la replication se serait alors produite à l'interphase ou à la télophase précédant la méiose. DARLINGTON et ses élèves, par contre, pensent que l'appariement précède le clivage. Chez les Orchidées, la finesse des éléments s'oppose à ce que l'on fournisse une interprétation d'après les observations au microscope photonique.

Le microscope électronique, en revanche, montre un épaississement des chromosomes qui aboutit à un dédoublement au diplotène. Certes on peut objecter que la fissuration s'est produite auparavant et ne devient visible qu'au diplotène. Mais l'observation des stades antérieurs n'a pas permis de voir que les chromosomes étaient déjà doubles. Les études antérieures faites au microscope électronique sur la méiose n'ont pas précisé le moment de la replication. Si donc les chromosomes se sont dédoublés avant la prophase, il faudrait en conclure que l'union entre les deux chromosomes-fils est suffisamment intime pour passer inaperçue.

d) Les granulations (gd) (Pl. 18, fig. 2) observées dans quelques-uns des espaces clairs ne représentent pas un filament médian coupé transversalement, car elles ne sont pas constantes. Elles semblent plutôt dues à la coagulation de substances du nucléoplasme comprises entre les spires des filament enroulés.

3) LA DIACINÈSE.

Chez *Oncidium splendidum* (Pl. 14), nous avons décrit deux chromosomes enroulés l'un autour de l'autre, séparés par un sillon (S). Les gemini ont donc ici l'aspect classique des chromosomes de diacinèse, tel qu'on peut l'observer au microscope photonique.

Chez *Vanda boshii* (Pl. 19, fig. 1), l'apparence globuleuse des chromosomes correspond aux observations faites au microscope photonique : les gemini, chez *Vanda boshii*, comme chez de nombreuses Orchidées, se présentent sous la forme de deux petites boules étroitement accolées. Les gemini ont donc à ce stade un aspect prémétaphasique, qui caractérise l'étape ultime de la diacinèse. Mais cette phase dure suffisamment longtemps pour qu'on l'observe fréquemment chez de nombreuses Orchidées.

4) DISCUSSION GÉNÉRALE SUR LE PACHYTÈNE, LE DIPLÔTÈNE ET LA DIACINÈSE.

a) *Éclaircissement du fond nucléaire.*

On remarque un éclaircissement important du fond nucléaire après le synapsis, visible chez *Oncidium splendidum*, et plus encore chez *Vanda boshii*. Doit-on le considérer comme un artéfact ? Certaines granulations dans le nucléoplasme montrent, en effet, que les fibrilles protéiques ont pu

s'agglomérer et amener par leur coagulation un éclaircissement du fond nucléaire. Il est possible aussi que certaines substances aient disparu au cours de la fixation. CLAUDE (1960) attribue la mauvaise fixation des noyaux au « lessivage » du nucléoplasme par les produits contenus dans le liquide tampon.

Dans les coupes fixées au permanganate de potassium, les chromosomes apparaissent clairs sur un fond nucléaire foncé. En effet, la chromatine n'est pas fixée par le permanganate de potassium et on obtient seulement par cette méthode le « fantôme » des chromosomes. Mais la densité et l'homogénéité du fond nucléaire indiquent que les protéines qui le composent ont été bien conservées et que, par conséquent, elles sont encore présentes à ce stade en quantité appréciable.

Les chromosomes métaphasiques, prolongements des chromosomes de fin de prophase, ont la même structure que ces derniers. Or la substance fusoriale qui entoure les chromosomes métaphasiques est structurée et semble donc bien fixée. Par analogie, on peut penser que les chromosomes de fin de prophase sont également bien fixés, même s'il y a eu « lessivage » de certaines substances du fond nucléaire.

b) Rapports entre les chromosomes et l'enveloppe nucléaire.

Nous avons signalé à propos de l'enveloppe nucléaire les rapports qui existent entre la membrane interne et la chromatine. MOSES (1958 a) et SOTELO et TRUJILLO-CENOS (1958) ont décrit l'adhérence à l'enveloppe du « synaptonemal complex ». Or cette adhérence n'est pas inhérente au stade synapsis, elle se maintient pendant toute la prophase. On observe, aux stades post-synapsis, des chromosomes qui se dirigent perpendiculairement à l'enveloppe nucléaire. MOSES (1958 a) pense que cette disposition se rapporte aux chromosomes qui adhèrent à l'enveloppe nucléaire par leur extrémité. On peut cependant se demander si les chromosomes prennent contact avec l'enveloppe nucléaire uniquement par leur extrémité. Il est, en effet, possible de concevoir l'adhérence par d'autres points : par le cinétochore, par un bras, etc... Dans la Planche 16, fig. 2 (double flèche), on voit un chromosome dont un bras est parallèle et adhérent à l'enveloppe nucléaire.

Cette liaison expliquerait que les *geminis* sont toujours périphériques. On avait constaté ce fait au microscope photonique, mais on ne lui avait pas trouvé d'explication. Il n'y a donc pas de mouvement centrifuge des chromosomes ou des bivalents au cours de la prophase, mais seulement raccourcissement à partir d'un lieu ancré sur l'enveloppe nucléaire. Cette adhérence expliquerait aussi la « margination » de la chromatine pendant l'interphase.

Quant à la nature de la liaison, elle reste inconnue, car les deux membranes nucléaires gardent leur individualité ; on note seulement l'absence de pores au lieu de contact.

c) *Les chiasmas.*

D'après la caryologie « classique », la séparation entre les chromosomes diacinétiques laisse des points de contact entre eux, que l'on nomme « chiasmas ». Le nombre des chiasmas est peu important, même chez les chromosomes longs. Chez les Orchidées, où les chromosomes sont très petits, ce nombre doit être assez faible et ne peut pas être évalué au microscope photonique. Aussi la chance d'observer un chiasma au microscope électronique est-elle réduite.

Il semble que dans la figure 1 de la Pl. 14 la coupe passe par un chiasma (voir le schéma de la Pl. 14'). Dans ce cas, l'entrecroisement se ferait entre chromosomes. Mais à l'intérieur de chacun des chromosomes (ch), on remarque des espaces clairs (ec) laissés par les chromatides qui s'entrecroisent. Dans ce cas, le contact s'établit entre chromatides.

Dans la figure 1 de la Pl. 22, on voit également des fibrilles qui joignent les chromosomes homologues (flèche dans le sillon S). Peut-on les appeler aussi chiasmas ? Ils n'ont pas la même valeur que les précédents : leur taille est variable, mais inférieure à celle des chromatides ; de plus, ils ne sont pas visibles au microscope photonique.

d) *Le sillon.*

Lorsqu'on examine au microscope photonique les gemini de diacinese de *Vanda boshii* et de nombreuses autres Orchidées, on constate que les chromosomes homologues sont fortement raccourcis et forment une boule, dont il est difficile de voir la dualité autrement que par un léger étranglement. Le microscope électronique montre qu'il n'y a pas pour autant fusion entre les chromosomes, puisqu'un sillon subsiste entre eux, sillon de la même largeur que celui qui existe entre les chromosomes du pachytène ou du zygotène, et qui est en dessous du pouvoir séparateur du microscope photonique.

D. — Présence d'une formation particulière

On rencontre dans les noyaux de *Vanda boshii*, en fin de prophase I, une formation arquée (Pl. 44, fig. 1, cernée de flèches) mesurant un micron de longueur et $0,3 \mu$ dans sa plus grande largeur.

Elle est caractérisée par la présence de minces lignes transversales de 50 à 60 Å d'épaisseur (à l'extrémité de la formation tout au moins, car au centre elles sont plus épaisses et leur limite est moins nette) qui se répètent périodiquement le long de la formation. La période est d'environ 560 Å. Autour de cette mince ligne, on remarque un matériel plus clair qu'elle, sans structure bien définie.

Nous ignorons à quoi correspond cette formation. On serait tenté de croire qu'ayant réalisé une préparation extrêmement favorable, on se trouve en présence d'un chromosome qui, coupé tangentiellement, laisserait apercevoir les fibrilles qui le constituent. La périodicité selon laquelle on rencontre les lignes osmiophiles serait due à l'enroulement en hélice du filament et la distance séparant deux lignes successives représenterait le pas de cette hélice.

Cette interprétation serait séduisante, mais pour la confirmer, il aurait fallu obtenir les coupes suivantes, de façon à faire une reconstitution.

Il est possible aussi de l'interpréter comme une substance organique cristallisée ; l'état cristallisé expliquerait la périodicité observée. En faveur de cette hypothèse plaiderait le fait qu'elle a été rencontrée chez *Vanda boshii* uniquement, mais à deux stades différents.

E. — La métaphase hétérotypique et la métaphase de première division pollinique

1) LA STRUCTURE DES CHROMOSOMES.

Les chromosomes de métaphase I et de première division pollinique diffèrent par leur forme, mais leur structure est cependant semblable : ils sont formés tous les deux de fibrilles de 80-120 Å d'épaisseur, fortement serrées les unes contre les autres. On ne distingue ni membrane limitante, ni « matrice ».

Les espaces clairs (ec) signalés sur la Pl. 22, fig. 2, et sur la Pl. 24 représentent des axes d'enroulement des chromatides.

Certains de ces espaces clairs possèdent une granulation dense à l'intérieur, d'autres en sont dépourvus. Comme aux stades post-synapsis, nous pensons qu'elle est due à la coagulation de substances nucléoplasmiques incluses à l'intérieur du chromosome, bien que ROTH (1958) ait observé dans un chromosome métaphasique un axe clair de 175 m μ de largeur contenant une fibrille centrale mesurant 13 m μ d'épaisseur, et deux latérales. Il interprète cette formation comme la prolongation en métaphase d'un « synaptinomal complex ». Nous avons discuté de la présence de cet espace clair et nous avons pu suivre sa genèse et son évolution au cours de la prophase de méiose. Nous pensons que le même phénomène se produit chaque fois qu'il y a enroulement, que ce soit entre chromosomes ou entre chromatides.

2) LE FUSEAU.

a) La question de la membrane fusoriale.

Nous n'avons jamais rencontré de membrane limitant extérieurement le fuseau. L'enveloppe nucléaire disparaît en formant des vésicules, mais non

en donnant une membrane fusoriale analogue à celle que WADA et SATO (1958) ont observée.

L'erreur de WADA et SATO s'explique, car le fixateur n'est pas adéquat et provoque une grossière coagulation du matériel. Eux-mêmes ne sont pas convaincus de l'existence d'une telle membrane puisqu'ils parlent d'une « border line delimiting the spindle ground substance from the cytoplasm » sans préciser s'il s'agit d'une membrane simple ou double.

b) *La structure du fuseau.*

Les recherches effectuées au microscope électronique sur les cellules-mères de microspores d'Orchidées ont montré que le fuseau contenait des fibrilles de 80-100 Å de largeur. Les coupes longitudinales favorables présentent souvent des fibrilles paires. D'autre part, dans les coupes transversales, on n'observe que des cercles groupés en paquets (Pl. 24, flèches). On peut donc admettre que les fibrilles vues dans les coupes longitudinales sont des profils de tubules de 200-240 Å de diamètre.

Ces tubules ressemblent beaucoup à ceux que DE HARVEN et BERNHARD (1956) et BERNHARD et DE HARVEN (1958) ont observés dans les sections longitudinales de noyaux métaphasiques de différentes cellules animales et que ces auteurs nomment « fibres fusoriales ».

RUTHMANN (1958) distingue dans le fuseau des spermatocytes d'Ecrevisse les fibrilles fusoriales, faiblement osmiophiles, groupées en faisceaux parallèles à l'axe du fuseau des saccules de l'ergastoplasme, dont les parois sont plus osmiophiles. Les fibrilles fusoriales ont une largeur maximum de 200 Å et elles ressemblent parfois à des canalicules.

Les observations faites sur les cellules d'Orchidées ne nous permettent de différencier qu'une seule catégorie d'éléments tubulaires. Ce qu'il faut souligner, c'est l'abondance et la densité de ces éléments. Signalons que PORTER et MACHADO (1960) ont observé, chez l'*Allium*, après fixation par le permanganate de potassium, un fuseau homogène avec seulement quelques profils de l'ergastoplasme entre les bras des chromosomes. Mais la différence de fixation n'autorise pas à faire des comparaisons.

D'après leur ressemblance avec les tubules décrits par BERNHARD et DE HARVEN (1958), on devrait donc nommer les tubules du fuseau des Orchidées : fibres fusoriales. Mais leur persistance dans le phragmoplaste empêche une telle assimilation. Nous en concluons que ce sont des profils de l'ergastoplasme.

Il faudrait alors se demander quelle est la structure des fibres fusoriales. On peut penser que ce sont des fibrilles de nature chimique inconnue, qui sont mal révélées par l'osmium (les fibrilles de RUTHMANN sont peu osmiophiles) et qui ne sont pas du tout fixées par le permanganate de potassium. Il subsiste donc en microscopie électronique, comme en microscopie photomicroscopique, une incertitude sur la nature même des fibres fusoriales. Par

contre, la présence d'éléments de l'ergastoplasme à l'intérieur du fuseau est peut-être responsable de l'aspect strié du fuseau, lorsqu'on examine celui-ci au microscope photonique.

Nous avons signalé en outre la présence, dans le fuseau, de fibrilles de 100 à 120 Å d'épaisseur, zigzagant dans la substance fusoriale. Leur taille et leur aspect sont peu différents de ceux des « cytonématas » décrits par STRUGGER et LINDNER (1959) dans les cellules méristématiques apicales d'*Allium cepa*.

F. — Le corps intermédiaire et le phragmoplaste

La zone laissée libre entre les deux lots de chromosomes est appelée corps intermédiaire ; lorsqu'il y a une ébauche de plaque cellulaire, on la nomme phragmoplaste.

Le corps intermédiaire des Orchidées montre des tubules de même taille et de même aspect que ceux qui existent dans le fuseau de la métaphase I. Cette assimilation est importante, car les cytologistes sont divisés sur la nature du phragmoplaste : certains pensent que les fibres fusoriales subsistent à l'anaphase et qu'elles servent de guide au déplacement des chromosomes. D'autres, par contre, avec WADA (1950, 1957), admettent que le déplacement des chromosomes vers les pôles est dû à la traction des fibres fusoriales et que le corps intermédiaire est ainsi dépourvu de telles fibres. Cette hypothèse est corroborée par les images des films de BAJER (1957).

Les observations au microscope électronique du phragmoplaste sont assez rares. SATO (1958, 1959) estime que le phragmoplaste est un système indépendant prenant naissance à partir du fuseau et que les fibrilles du phragmoplaste (600 Å) peuvent provenir des fibrilles du fuseau (150 Å) en se gonflant. Mais le matériel a été fixé avec une solution alcoolique de CdCl_2 et les images sont par conséquent assez grossières.

BUVAT et PUISSANT (1958) considèrent que l'apparence striée du phragmoplaste « provient exclusivement de la formation de membranes denses multiples souvent associées en faisceau de tubules de nature ergastoplasmique et au voisinage desquels se concentrent des granules denses identiques aux grains de Palade ». Pour eux, la fibrillation du phragmoplaste provient donc, non de la présence de fibrilles, mais de tubules de l'ergastoplasme néoformé.

PORTER et MACHADO (1960) ont une opinion analogue : les éléments aplatis de l'ergastoplasme, concentré à la métaphase aux pôles du fuseau, s'insinuent entre les chromosomes à l'anaphase, envahissent le corps intermédiaire et atteignent la zone médiane. A cet endroit, les éléments de l'ergastoplasme se ramifient abondamment en l'atteignant. Il en résulte la production d'un treillis compact de petits tubes dans le plan équatorial.

Les figures du corps intermédiaire et du phragmoplaste des Orchidées ne confirment pas les observations de PORTER et MACHADO. D'abord, les éléments

de l'ergastoplasme sont tubulaires et non en « nappes » (drap-like). Mais il faut remarquer que les figures fournies par PORTER et MACHADO proviennent de matériel fixé avec le permanganate de potassium. BUVAT et PUISANT (1958), dans le même matériel (*Allium cepa*), ont observé des éléments tubulaires.

Ensuite, les profils observés semblent *continus* d'un lot de chromosomes à l'autre. En ce sens, les observations faites sur le phragmoplaste des Orchidées corroborent celles de BUVAT et PUISANT.

A l'anaphase, après la montée des chromosomes aux pôles, des éléments de l'ergastoplasme pénètrent dans le corps intermédiaire. Il existe dans le phragmoplaste des granules analogues aux grains de Palade du cytoplasme, mais il ne semblent pas attachés aux membranes de l'ergastoplasme. Dans le fuseau, par contre, les profils membranaires sont parfois tapissés de granules.

G. — La plaque cellulaire

Dans le phragmoplaste, on observe, chez les Orchidées, des vésicules et des vacuoles alignées dans le plan équatorial. Elles constituent la première indication de la plaque équatoriale. Il se peut d'ailleurs que les vacuoles proviennent de l'évolution des vésicules, par augmentation de leur taille. Puis les vacuoles se gonflent ; elles représentent vraisemblablement les vacuoles pectiques de la cytologie classique, bien que leur contenu reste clair. Mais on sait que les substances pectiques sont très peu osmophiles. Les vacuoles, en devenant coalescentes, constituent une véritable plaque cellulaire (Pl. 29, fig. 1 et 2). Ce n'est qu'à ce moment que l'on distingue le dépôt de substance pectique, premier indice de la lamelle moyenne.

Ces observations sont en accord avec les recherches effectuées au microscope photonique par BECKER (1932), qui avait observé dans les poils staminaux de *Tradescantia*, à l'emplacement de la future cloison, la présence de granules colorables par le rouge neutre et le bleu de crésyl. La plaque cellulaire résulte de leur fusion. YASUI (1939), travaillant sur le même matériel, a fait des remarques analogues.

Ces observations confirment les descriptions données par BUVAT et PUISANT (1958) sur la formation de la plaque cellulaire dans le méristème radicaire d'*Allium cepa*. Cependant ces derniers auteurs observent des vacuoles pectiques entre les travées de l'ergastoplasme. Sur nos figures, la localisation des vacuoles et des vésicules n'est pas nette, en raison de leur petite taille et de la densité accrue du phragmoplaste à leur niveau. Il semble cependant que les vésicules et les vacuoles soient situées dans les travées.

PORTER et MACHADO (1960) ont une conception légèrement différente : la plaque cellulaire provient bien de l'ergastoplasme, mais ils pensent que les nombreux profils vus à l'équateur du phragmoplaste s'étendent dans le plan équatorial et se ramifient abondamment en l'atteignant. Il en résulte la for-

mation d'un treillis compact de petits tubes au niveau de l'équateur. C'est dans ce treillis qu'apparaissent les premiers indices de la plaque cellulaire sous forme de petites vésicules.

Chez les microspores d'Orchidées, nous n'avons jamais remarqué la formation d'un tel treillis au niveau de l'équateur du phragmoplaste. La minceur des coupes ne permet pas de suivre les tubules sur une grande longueur ; c'est la raison pour laquelle on n'observe que des segments de tubules. Certaines préparations favorables montrent cependant, sans contestation possible, que les tubules — ou les faisceaux de tubules — passent d'une partie du phragmoplaste à l'autre sans s'interrompre au niveau de l'équateur.

Ces isthmes laissés entre les cytoplasmes, après la jonction des vacuoles, sont le point de départ des plasmodesmes, comme BUVAT et PUISSANT (1958) l'ont démontré dans les cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*.

*
* *

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION DE L'ETUDE DU NOYAU

Le microscope électronique a apporté des résultats sur un certain nombre de points que nous allons rapidement passer en revue.

A. — La fixation du noyau

La plus grave critique que l'on peut adresser aux résultats de la microscopie électronique est que les figures obtenues proviennent presque uniquement de matériel fixé par l'osmium. Seul, en effet, le tétr oxyde d'osmium s'est révélé être le fixateur le plus constant. Certains auteurs ont réussi à fixer par le formol tamponné, dans des conditions exceptionnelles ; bien que le contraste soit moins grand, les noyaux présentent la même structure que ceux fixés par le tétr oxyde d'osmium. Cette analogie prouve que les figures observées ne sont pas seulement des figures révélées par l'osmium.

Malgré toutes ces vicissitudes, le microscope électronique apporte des résultats tangibles dans certains domaines, en particulier dans celui de l'ultrastructure de la chromatine.

Les fixateurs classiques employés habituellement pour les études cytologiques (Helly, Navaschine, Flemming, etc...), même dans le cas de fixateurs « doux », sont des agents coagulants. Il est symptomatique, en effet, que les fixateurs réputés les meilleurs en cytologie classique soient de très mauvais fixateurs pour la microscopie électronique. En effet, en microscopie

pie électronique, les caractères qui permettent de distinguer la bonne fixation sont des détails de structure situés en-dessous de la limite du pouvoir séparateur du microscope photonique.

MAKAROV (1953), voulant prouver la non-persistance des chromosomes durant l'interphase, a adressé aux méthodes de la cytologie des critiques pertinentes. Il démontre que les fixateurs dits « bons » provoquent la coagulation des protéines, mais il considère que le tétroxyde d'osmium est le meilleur fixateur des structures nucléaires ; ce qui rejoint les conclusions de la microscopie électronique ; le tétroxyde d'osmium employé seul, comme dans la méthode de Palade, ne provoque pas de coagulation. Mieux, les protéines traitées par lui perdent leur aptitude à coaguler sous l'influence des acides ou des sels. Comment se fait-il que les fixateurs dans lesquels entre le tétroxyde d'osmium soient aussi des fixateurs coagulants ? Le tétroxyde d'osmium pénètre très lentement et il y a compétition entre lui et les autres substances du mélange. Ces derniers ont une diffusion plus rapide et lorsque le tétroxyde d'osmium atteint la cellule, son contenu a déjà été coagulé par les autres produits.

Mais les artéfacts, à condition qu'ils ne soient pas trop grossiers, n'en ont pas moins une haute signification. Notre expérience nous a montré que le noyau, même mal fixé, conserve son organisation générale, son « squelette ». Autrement dit, le fixateur déforme, mais ne crée pas. Il n'y a pas lieu de mettre en doute la réalité des chromosomes, ni leur pérennité, mais seulement leur structure fine.

B. — La structure des chromosomes

1) LES MICROFIBRILLES.

Les recherches au microscope photonique avaient conduit les cytologistes à imaginer que le chromosome était constitué par un ou deux filaments ou chromonémas enroulés en hélice. Le chromosome somatique serait alors formé par une « spirale mineure » à laquelle se superposerait une « spirale majeure » dans le chromosome de méiose. Dans la théorie chromonématique, le chromonéma serait l'élément structural fondamental du chromosome.

Les recherches au microscope électronique ne confirment pas l'existence du chromonéma. Par contre, nous avons pu mettre en évidence, chez les Orchidées, des quantités de microfibrilles dont l'épaisseur varie de 50 à 100 Å au synapsis, de 80 à 100 Å après le synapsis. Cette taille est en rapport avec celle observée par les auteurs dans les différents groupes animaux ou végétaux (voir le tableau 3).

TABLEAU 3

Diamètre des microfibrilles dans différentes espèces animales et végétales

<i>Auteurs</i>	<i>Taille</i>	<i>Origine</i>
CALLAN et TOMLIN 1950	200 Å	« Lampbrush » Chromosome.
GUYENOT et DANON 1953	150 Å	<i>Id.</i>
HOWANITZ 1953	40-50 Å	Cellules sanguines.
BEERMANN et BAHR 1954	100 Å	Chr. géant. Gl. saliv. de chironome.
RIS 1955	Fibrilles de 500 à 600 Å com- posées de 2 filaments de 200	« Lampbrush » Chromosome. Chromosomes de Monocotylédones.
AMBROSE et ses collaborateurs 1955	100 à 200 Å	Chrom. de glandes salivaires de Diptères.
KAUFMANN et MAC DONALD 1956	125 Å venant de l'enroulement d'une fibrille de 40 Å	Glandes salivaires de Drosophile.
GAY 1956	125 Å	Glandes salivaires de Drosophile.
AMANO et ses collaborateurs 1956	Protochromonéma : 20 à 30 Å	Cellules sanguines de Souris.
PAPPAS 1956	70 Å	<i>Anoeba proteus.</i>
GRASSÉ et ses collaborateurs 1957	70 à 100 Å	Chrom. interfascique de Peridinien.
YASUZUMI 1957	100 Å	Chromosome géant de gl. saliv. de Drosophile.
SITTE 1958	60-200 Å	Méristème racinaire de Pois.
BOPP-HASSENKAMP 1958	100-120 Å venant de la spirali- sation d'une microfibrille de 40 Å	Anthers de Monocotylédones.
RIS (sur coupes) 1958	100 Å venant de l'union de 2 microfibrilles de 40 Å	Divers Invertébrés.
MOSES 1958	Fibrilles de 50-100 Å perpendi- culaires au « Synaptonemal- complex »	Salamandre.
PAPPAS et BRANDT 1958	120-150 Å	Protoz. : Chaos-Chaos.
DALES 1960	50-400 Å	Chromosomes somatiques de Mammifères.
SOTELO et TRUJILLO-CENOS 1960	50 Å	SET de noyaux de divers insectes.
PORTER 1960		Signale des microfibrilles dans méristème radi- culaire d'Oignon sans donner de mesure.

La majorité des auteurs observent donc des microfibrilles dont l'épaisseur s'échelonne entre 50 et 120 Å.

2) RAPPORTS ENTRE LES MICROFIBRILLES ET LE DNP.

DALES (1960) observe dans les chromosomes somatiques des microfibrilles de 50 à 100 Å. Ses figures de chromosomes sont très semblables aux nôtres. Il a fait des expériences avec la désoxyribonucléase : la désintégration des fibrilles lui suggère que l'ADN y est localisé, mais, de plus, intimement lié à un autre matériel, vraisemblablement des histones. Il rejette l'hypothèse de RIS suivant laquelle l'ADN, entouré par un cylindre de protéines, serait le cœur de la fibrille. Il faut ajouter que RIS (1959) a modifié son opinion primitive : il pense maintenant que l'unité de base est une microfibrille de 40 Å faite d'acide nucléique et de protéine.

D'autre part les biochimistes, au premier rang desquels se trouvent WATSON et CRICK (1953), ont établi un modèle hélicoïdal de la molécule d'ADN, modèle maintenant classique. Le diamètre de l'hélice est de 18 Å pour la forme A.

Mais dans le noyau, l'ADN n'est pas à l'état libre : il est combiné avec des protéines pour constituer une molécule de DNP dont le diamètre est d'environ 40 Å. Cependant, tous les biochimistes ne sont pas d'accord sur le diamètre de la molécule ; ainsi LUZZATI et NIKOLAIIEFF (1959) ont observé l'organisation de la nucléohistone et montré que le diamètre de sa molécule est de l'ordre de 100 Å. La taille et la structure des nucléoprotéines ne sont donc pas encore bien établies et elles varient certainement avec les procédés d'extraction employés.

On ne voit pas très bien quel rapport existe entre la macromolécule d'ADN et les microfibrilles observées au microscope électronique, mais on peut constater que les recherches récentes font état de fibrilles dont la taille est de plus en plus petite et se rapprochent, par là même, de celles des molécules de DNP (30 Å : AMANO ; 40 Å : BOPP-HASSENKAMP, RIS). On travaille alors à proximité du pouvoir séparateur du microscope électronique, et on peut facilement être le jouet d'artéfacts, en particulier d'artéfacts de fixation. Si nous nous en tenons aux rapports de la molécule de DNP et des fibrilles de 80-120 Å, deux hypothèses sont actuellement possibles pour expliquer le passage de l'une à l'autre :

— La microfibrille est un câble formé par plusieurs molécules de DNP tordues ensemble. Ce câble est analogue alors à celui de la kératine (formé de plusieurs molécules de polypeptides) ; c'est à une conception voisine que se range RIS quand il voit deux subfibrilles de 40 Å donner une fibrille de 100 Å.

— La molécule de DNP s'enroule en une hélice de 100 Å environ de diamètre. La fibrille de 100-120 Å serait donc une hélice de premier ordre.

Les changements qui interviennent dans la constitution même des pro-

téines complexées avec l'ADN peuvent amener des changements dans le diamètre de la molécule.

Aussi, dans ce domaine, toute hypothèse sera aléatoire tant que l'on ne connaîtra pas les modifications que le tétr oxyde d'osmium est susceptible d'apporter à la molécule de DNP.

Il est donc très important de savoir si les fibrilles observées ne sont pas un agglomérat de molécules de DNP, agglomérat dû à un départ de molécules d'eau.

3) LA FORME DES MICROFIBRILLES.

Chez les Orchidées, les microfibrilles observées sont toujours enroulées, même à l'interphase. On n'en observe en effet que des segments. Cet enroulement est dû à des torsions internes qui ont lieu au niveau de la molécule. Cependant, dans les chromosomes interphasiques des Péri diniens (GRASSÉ et DRAGESCO, 1957), les microfibrilles sont allongées sans présenter d'enroulement, alors que dans les chromosomes géants YASUZUMI (1957) a vu que les microfibrilles sont enroulées dans les bandes et les interbandes.

4) LES CHROMOMÈRES.

Au microscope photonique, les caryologistes ont cru discerner des grains alignés sur le chromonéma comme des perles dans un collier. Ces grains sont Feulgen + et ils furent nommés chromomères.

Au microscope électronique, les microfibrilles qui constituent le chromosome sont d'épaisseur à peu près partout égale. Il est donc difficile de localiser les chromomères. GRASSÉ et DRAGESCO (1957) avaient déjà fait des constatations analogues sur le chromosome interphasique des Péri diniens.

Cette interprétation semble en accord avec les données biochimiques récentes. En effet, les idées sur le support matériel des gènes ont évolué dans les dernières années. A l'hypothèse d'un filament, ou chromonéma, recouvert au niveau des chromomères par du DNP, s'est substituée l'idée que le DNP pouvait constituer le filament.

L'existence de microfibrilles de DNP de calibre constant comme support matériel de l'hérédité est donc en accord avec les idées actuelles qui admettent que l'information génétique est basée sur l'ordre d'enchaînement des nucléotides.

C. — La morphologie des chromosomes

L'étude des microfibrilles ne doit pas faire perdre de vue le chromosome, autre unité, visible cette fois au microscope photonique. Mais l'interprétation de la structure de cet élément a bien changé depuis sa découverte. On l'a d'abord considéré comme un bâtonnet souple, puis comme un boyau provenant de l'enroulement d'un filament : le chromonéma.

Les recherches au microscope électronique permettent de concevoir

d'une autre manière le chromosome en lui reconnaissant une nature fibrillaire ; mais les avis divergent sur la façon dont les fibrilles sont organisées.

MARQUARDT et ses collaborateurs (1956), AMANO et ses collaborateurs (1956), BOPP-HASSENKAMP (1959) raisonnent comme si le chromosome provenait de filaments enroulés en hélice et subissant 3 ou 4 ordres d'enroulements.

RIS est le promoteur d'une autre théorie : le chromosome est fait d'un faisceau de fibrilles. GRASSÉ est également de cet avis : les chromosomes interphasiques des Périдиниens « se présentent comme de forts faisceaux de

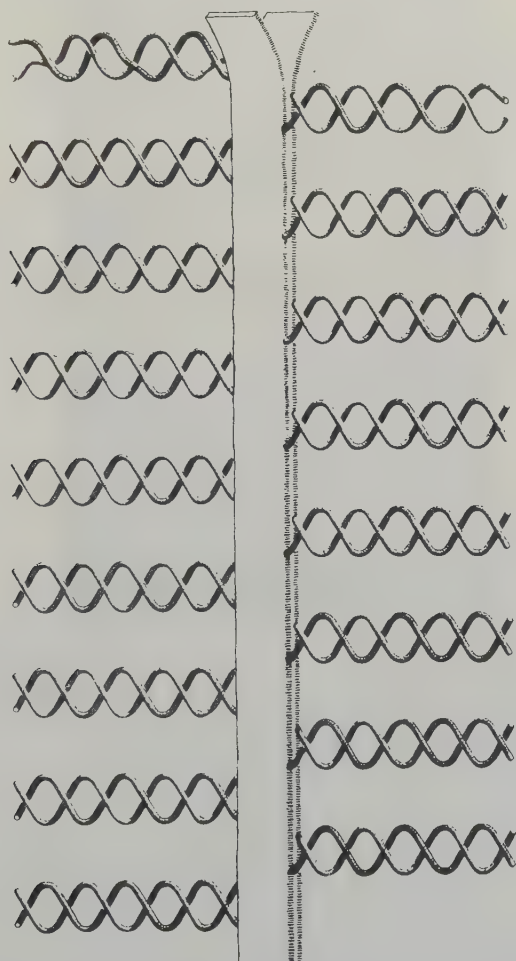


FIG. 10. — Modèle d'une chromatide (d'après TAYLOR, 1958).

La colonne centrale est formée de deux rubans auxquels sont attachées les molécules d'ADN. Une chaîne de chaque molécule est liée au ruban situé en avant, tandis que l'autre est attachée à celui qui est situé en arrière.

fibrilles, non entourés d'une membrane définie et décrivant une hélice à tours passablement serrés ». Le nombre des fibrilles composant ce faisceau est certainement supérieur à trente. GRASSÉ et ses collaborateurs interprètent ces fibrilles comme des chromonémas.

KAUFMANN et DE (1956) pensent également que le chromosome de *Tridacantia* est une hiérarchie de paires de paires. Ainsi, à la prophase somatique, ils comptent 64 chromonémas.

TAYLOR (1958) a établi, après incorporation de thymidine marquée, que chaque chromatide se divisait en deux parties dont l'une reste intacte et sert de moule à la formation de l'autre. Il imagine la chromatide comme un ruban de protéines fait de deux feuillets, auxquels sont liés perpendiculairement les doubles hélices d'ADN (fig. 10). Quand la chromatide se divise, les deux feuillets se déroulent, emportant chacun avec eux une des chaînes complémentaires d'ADN. Ensuite chaque chaîne reconstruit un nouveau partenaire. La division se produit comme il est indiqué dans la figure 10. On voit comment chaque chromatide contient de la chromatine « vieille » et « jeune ».

MOSES (1958 *b*) pense que le schéma du chromosome donné par TAYLOR expliquerait les figures du « synaptinemal complex ». Mais bien des obscurités subsistent encore dans cette adaptation. Il resterait à expliquer la rareté des formations axiales simples dans le chromosome somatique. Si nous avons observé un « chromosomal core » dans un noyau somatique, c'est un cas particulier en rapport avec un enroulement plus serré.

D. — Le chromosome des Orchidées : interprétation personnelle

Les formations simples et doubles des Orchidées ne sont pas en opposition avec le schéma de TAYLOR. On trouve, en effet, des fibrilles de 50-100 Å situées presque perpendiculairement à l'axe. Mais on peut aussi les interpréter comme des fibrilles latérales qui convergent vers un faisceau.

Quelle que soit l'interprétation donnée, nous pensons qu'une formation simple se présente comme une unité. La fin de prophase de méiose des Orchidées nous montre un enroulement en hélice de chacune de ces unités. Celle-ci se comporte donc comme le chromonéma de la cytologie classique. Pour estimer le degré d'enroulement des fibrilles du chromosome, il suffit de raisonner comme si le chromonéma vu au microscope photonique était un faisceau de fibrilles (fig. 11). Le microscope électronique montre, en plus, que le faisceau est composé de microfibrilles enroulées individuellement et qui le demeurent à l'interphase. Les zones où les fibrilles sont enroulées pourraient représenter les chromomères de la cytologie classique.

Il est aussi vraisemblable que les microfibrilles sont tordues ensemble dans le faisceau. Mais le système d'enroulement reste relativement simple.

Cette interprétation présente l'avantage de concilier les résultats indiscutables de la microscopie photonique et de la microscopie électronique.

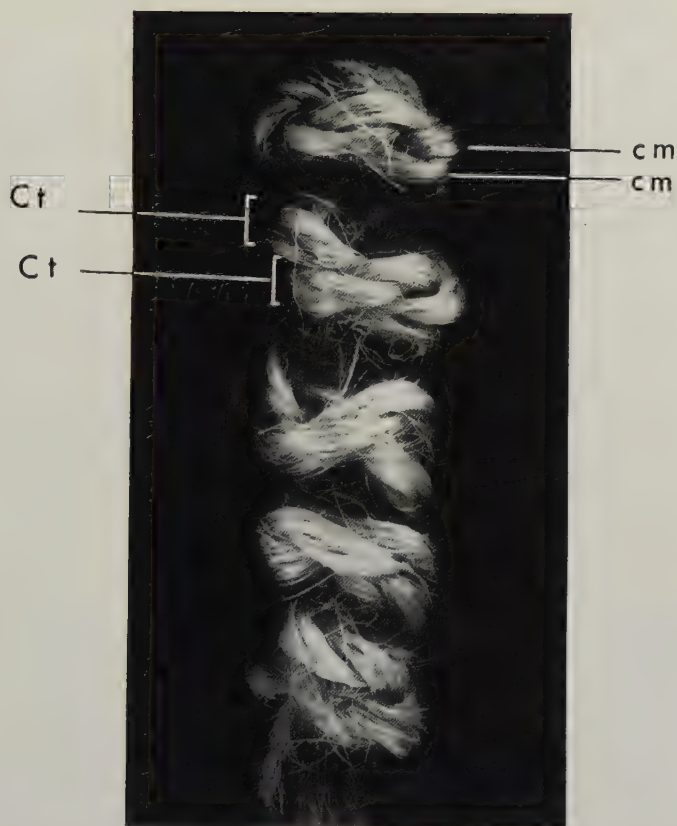


FIG. 11. — Schéma du chromosome à la métaphase de division hétérotypique (d'après les études au microscope électronique des chromosomes d'Orchidées).

Les chromatides-filles (Ct), serrées les unes contre les autres, sont enroulées suivant les spirales majeure et mineure. (Les différentes spires ont été desserrées pour mieux montrer la structure du chromosome). Chaque chromatide est elle-même formée d'une paire de chromonémas (cm) entrelacés. De plus les chromonémas sont constitués de fibrilles (qui contiennent l'ADN) dont l'épaisseur est de l'ordre de 100 Å (l'enroulement des fibrilles sur elles-mêmes n'a pas été figuré).

LE CYTOPLASME

GENERALITES

Le cytoplasme, surtout celui de la cellule animale, a été beaucoup plus étudié au microscope électronique que le contenu nucléaire. Les observations ne datent que d'une dizaine d'années, mais elles ont déjà fourni matière à un renouvellement à peu près total de la cytologie. L'étude de la cellule végétale est moins poussée, en raison peut-être du fait que son ultrastructure est plus difficile à « saisir ». Cependant les recherches déjà entreprises ont montré que son organisation générale ne différait pas essentiellement de celle de la cellule animale. Quant aux organites spécifiques de la cellule végétale, tels que les plastes, s'ils n'ont pas encore fait l'objet d'une étude extensive, ils n'en sont pas moins étudiés à fond dans quelques espèces végétales.

Des obscurités subsistent encore, comme par exemple les liens entre les divers systèmes, l'origine des différents organites, la structure du cytoplasme fondamental. Cependant, si on peut déjà se faire une idée de l'organisation générale des cellules méristématiques, les plus faciles à étudier, on ne connaît que très peu de choses sur les cellules-mères des microspores et presque rien sur les cellules reproductrices femelles.

Aussi, après avoir étudié l'ultrastructure du cytoplasme des cellules-mères des microspores d'Orchidées, serons-nous amené à la comparer à celle de la cellule méristématique, faute d'avoir des points de référence avec des cellules-mères de microspores d'autres espèces.

*
* *

L'APPAREIL DE GOLGI

Nous ne ferons pas l'historique de la découverte de cet appareil, observé d'abord dans les cellules animales, puis trouvé récemment dans les cellules végétales à l'aide du microscope électronique. De bonnes mises au point ont été faites par HAGUENAU (1955), HAGUENAU et BERNHARD (1955). GRASSÉ et ses collaborateurs (1956), OBERLING (1959) pour la cellule animale, par BUVAT (1957 b, 1958) pour les cellules végétales.

I. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

Nous décrivons l'appareil de Golgi dans le cytoplasme des cellules-mères des grains de pollen d'Orchidées à différents stades, principalement pendant la méiose hétérotypique et pendant la première division pollinique.

On peut faire une remarque générale sur leur localisation : dans les cellules-mères de microspores d'Orchidées, comme chez d'autres végétaux, les dictyosomes sont disséminés dans tout le cytoplasme. Quelquefois, cependant, ils sont groupés.

1) CELLULES-MÈRES AGÉES (Pl. 36, fig. 2).

Les observations se rapportent ici à la seule espèce *Oncidium splendendum*. Le dictyosome (di) a environ un μ de longueur. Il est formé par une pile de 4-5 saccules aplatis (s). L'épaisseur de chaque paroi osmiophile d'un saccule est d'environ 40 à 45 Å. L'espace clair qui les sépare mesure 50 à 60 Å. Les bords des saccules sont renflés en ampoules (A) de taille variable, qui peuvent atteindre 0,3 μ . Les plus petites sont nettement des dilata-tions de l'extrémité des saccules. Les plus grosses ressemblent à des vacuoles. Leurs parois sont évanescentes ; dans quelques endroits, on observe bien leur contour et la membrane qui les entoure a la même épaisseur que la paroi du saccule (flèches). Leur liaison avec le saccule qui les a engendrées est nette (doubles flèches). Ce ne sont donc pas des vacuoles, mais des renflements du bord des saccules.

Cependant tous les saccules ne présentent pas des ampoules. Dans ce cas, ils sont latéralement en relation avec de petites vésicules (vs), à parois osmiophiles et à contenu dense, de 250 à 500 Å de diamètre.

Autour du dictyosome, le cytoplasme fondamental paraît dense et finement granuleux.

2) LA DIVISION HÉTÉROTYPIQUE.

Au début de la prophase, les images sont peu différentes. L'appareil de Golgi présente toujours des dilata-tions en ampoule et émet latéralement des petites vésicules.

A la fin de la prophase, l'aspect change peu (Pl. 43, di). Il semble cependant que les vésicules sont émises en plus grand nombre et que la taille des ampoules diminue.

A la métaphase I, les dictyosomes sont abondants à la périphérie du fuseau (CHARDARD, 1960 a).

3) LES MICROSPORES (Pl. 46, fig. 2).

Dans les microspores, les dictyosomes ont la même structure que dans les cellules-mères : ils sont composés d'une pile de saccules et des vésicules sont émises par les bords des saccules. Par contre, les ampoules sont plus rares, sinon absentes.

Sur la planche 50, on observe plusieurs dictyosomes (di) formés d'un petit nombre de saccules et alignés en arc de cercle.

II. — DISCUSSION

D'après les recherches de GRASSÉ et de ses collaborateurs, l'appareil de Golgi montre au microscope électronique deux structures inframicroscopiques : des saccules empilés et des vésicules osmiphiles émises par les saccules.

Nous avons retrouvé dans les dictyosomes des cellules-mères des microspores d'Orchidées les caractéristiques des éléments de l'appareil de Golgi : saccules et vésicules. Mais, en outre, nous avons observé des ampoules, dilatactions importantes des bords des saccules, situées à la périphérie du dictyosome. La paroi des ampoules est souvent évanescence ; mais il faut attribuer ce fait à la coupe qui l'a sectionnée obliquement. Quand on peut observer distinctement cette paroi, on remarque qu'elle a la même épaisseur que la membrane limitant les saccules. Au niveau des ampoules, la paroi n'est donc pas étirée.

D'après GRASSÉ et ses collaborateurs (1956), les vacuoles ou les espaces clairs assez importants qui siègent à la périphérie de la zone de Golgi ne font pas partie de l'appareil, car ils ne sont pas constants. Il est difficile de dénier aux espaces clairs des Orchidées leur appartenance à la zone de Golgi, puisque l'on voit leur liaison avec les saccules.

Selon SJOSTRAND et HANZON (1954 b), les espaces clairs sont dus à des artéfacts de fixation. Il est possible, en effet, qu'il y ait un gonflement des saccules au moment de la fixation. Mais les autres appareils de la cellule ne montrent pas de tels gonflements et semblent correctement fixés.

A notre avis, ces ampoules correspondent plutôt à des variations de l'état physiologique des cellules.

Dans les microspores, les dictyosomes sont souvent disposés en file. BUVAT (1958) a observé dans les cellules méristématiques d'*Elodea canadensis* des groupements de plusieurs unités dont les dispositions en arcs, en lignes brisées, en cercles, lui suggèrent que les dictyosomes proviennent peut-être de la division d'un système par étirement et constriction des saccules. Il est donc possible que, dans les microspores d'Orchidées, on soit en face d'un phénomène de division des dictyosomes.

Les microspores possèdent des dictyosomes analogues à ceux des cellules-mères en prophase. Cependant, s'ils émettent des vésicules, les ampoules ont disparu. On peut donc penser qu'il existe deux phases au cours de l'évolution des cellules-mères de microspores.

a) Une phase « *sécrétoire* » caractérisée par un nombre de saccules assez faible (par comparaison avec celui rencontré aux autres stades et dans les cellules méristématiques) émettant des vésicules osmiophiles et surtout par la présence d'ampoules à contenu clair, qui marque l'hydratation du cytoplasme.

Cette phase est nette en prophase de méiose, mais on remarque aussi une activité transitoire de l'appareil de Golgi au moment de la métaphase de la division hétérotypique et de la première division pollinique, sous forme d'émission de vésicules osmiophiles.

b) Une phase de *multiplication*, qui se marque par de nombreuses figures de division des dictyosomes, avec saccules étirés et étranglés et par la rareté des ampoules. On l'observe dans les microspores et cette période est concomitante d'une déshydratation du cytoplasme.

A propos de l'origine des dictyosomes, nous avons décrit des figures de division par constriction des saccules. BUVAT et PUISSANT (1958) pensent que les dictyosomes peuvent se former *de novo* dans la substance du phragmoplaste, à la télophase ; mais au cours des télophases de première division pollinique que nous avons observées, nous n'avons jamais rencontré de telles néoformations.

*
* *

L'ERGASTOPLASME

ou

RETICULUM ENDOPLASMIQUE

I. — HISTORIQUE

Ce système a été découvert dans les cellules examinées *in toto* au microscope électronique. Les cellules animales cultivées sur formvar s'étaient en film très mince sur leur support, ce qui leur permet d'être traversées par les électrons. Les images obtenues ont permis de distinguer dans les diverses catégories de cellules des vésicules anastomosées formant un système réticulaire lâche (PORTER et ses collaborateurs, 1945). Ce système fut retrouvé sur les coupes ultra-fines et appelé « endoplasmic reticulum » (DALTON et ses collaborateurs, 1950 ; PORTER et ses collaborateurs, 1952 ; PALADE et PORTER, 1952).

Au même moment, les cytologistes français (BERNHARD et ses collaborateurs, 1951 ; OBERLING et ses collaborateurs, 1953) constatèrent que les membranes qui limitent ce système de cavités sont abondantes dans les régions les plus basophiles du cytoplasme et les rapprochèrent des structures filamenteuses décrites par GARNIER en 1897 dans la cellule animale, sous le nom d'ergastoplasme.

L'examen des coupes ultra-fines précisa la structure de ce système en montrant des membranes, profils de saccules ou de tubules. PALADE (1953-1955) démontra que des grains riches en ARN étaient attachés aux membranes. Les nombreux travaux ultérieurs entrepris par de nombreux auteurs sur un matériel varié prouvèrent l'existence dans la cellule d'un réseau de tubules et de saccules. Mais un conflit de terminologie s'est élevé pour savoir si on devait appeler ce système de cavités « endoplasmic reticulum » ou ergastoplasme.

D'après HAGUENAU (1958), l'ergastoplasme est composé de trois parties principales :

1) *Des membranes intracytoplasmiques*, de 40 Å environ d'épaisseur. A ce système de membranes, PORTER et PALADE ont donné le nom d'« endoplasmic reticulum ». Elles constituent la partie la plus caractéristique du système.

2) *L'espace délimité par ces membranes* est tubulaire ou canaliculaire, lorsque les membranes sont parallèles et serrées les unes contre les autres. Mais il peut être aussi sous forme de cavités irrégulières. Il contient une substance finement granulaire, parfois très dense.

3) *Des granules*, de forme arrondie, de 130 à 150 Å de diamètre, opaques aux électrons, généralement appelés « grains de Palade » ou ribosomes. PALADE et SIEKEVITZ (1955, 1956) ont démontré que ce sont des granules de ribonucléoprotéines (RNP) et on peut les tenir pour responsables de la basophilie du cytoplasme.

Ils ont beaucoup d'affinités pour les membranes intracytoplasmiques auxquelles ils sont souvent attachés. Dans ce cas, les membranes sont dites « rough surfaced ». Lorsqu'elles en sont dépourvues, on les appelle « smooth surfaced ».

Mais les grains de Palade peuvent être également « libres » dans le cytoplasme.

Cependant SJOSTRAND (1953) a publié une interprétation différente des membranes observées sur les coupes et il pense que l'on a rangé sous un même nom des formations très diverses, auxquelles il convient de réserver des noms distincts. Il appelle ces profils « cyto-membranes » et il les différencie en ajoutant une lettre de l'alphabet grec. Cette manière a l'avantage de ne préjuger en rien de leur fonction, mais enlève à ce système son unité démontrée dans certains cas particuliers.

Dans les cellules végétales, l'ergastoplasme a été observé chez *Chlamy-*

domonas par SAGER et PALADE (1957), dans les cellules radiculaires d'*Allium* par BUVAT et CARASSO (1957) et signalé par nous dans le grain de pollen d'Orchidées (1958). BUVAT a étendu cette notion d'ergastoplasme au système vacuolaire, si important chez les Végétaux, et a montré que les vacuoles n'étaient pas autre chose que des saccules dilatés.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Evolution de l'ergastoplasme au cours de la mitose hétérotypique

1) CELLULES-MÈRES ÂGÉES ET CELLULES AU DÉBUT DE LA PROPHASE.

D'un point de vue général, les cellules-mères âgées et les cellules du début de la prophase hétérotypique présentent de grandes ressemblances : leur cytoplasme est dense et contient beaucoup de membranes et de grains de Palade.

Sur la Pl. 36, on distingue des coupes de saccules aplatis (s) constitués par des membranes osmiophiles paires dont l'épaisseur moyenne de chacune se situe entre 60 et 75 Å. Elles laissent entre elles un espace faiblement osmiophile. Les extrémités des saccules sont légèrement renflées en ampoules. La continuité des membranes montre bien que l'espace est clos. A d'autres endroits (Pl. 36, à droite), on observe des lamelles paires (t), qui ressemblent par leur épaisseur et leur osmiophilie à celles décrites précédemment. Mais à l'extrémité, leurs membranes perdent leur parallélisme et deviennent évanescents (double flèche). On peut les interpréter comme des coupes de tubules en liaison avec des saccules dilatés, dont les parois sont coupées obliquement. Quant aux profils circulaires (ve), nous les attribuons à des coupes de vésicules.

Ailleurs, on distingue des profils évanescents (flèche) dessinant des figures diverses. Ce sont des saccules ou des tubules dont les parois sont coupées obliquement.

Les grains de Palade sont abondants et sont dispersés dans le cytoplasme. Les lamelles qui constituent l'ergastoplasme sont donc du type « smooth ».

Sur la Pl. 35 (en bas, à droite), on observe un espace clair (v), de forme arrondie ou ovoïde, limité par une membrane osmiophile. Il est relativement peu développé. Des traînées osmiophiles suggèrent une liaison avec les tubules de l'ergastoplasme.

Ces espaces clairs sont des vacuoles ; dans d'autres cas, les liaisons entre vacuoles et l'ergastoplasme sont nettes, mais le faible développement des vacuoles au début de la méiose rend l'observation de leur jonction plus difficile.

On observe aussi des liaisons, déjà signalées, entre l'ergastoplasme et l'enveloppe nucléaire.

2) FIN DE PROPHASE.

Les vacuoles deviennent alors plus nombreuses et sont parfois de grande taille. Cette vacuolisation, due à une importante hydratation du cytoplasme, rend le cytoplasme « spumeux » (Pl. 43, v).

3) MÉTAPHASE.

Le cytoplasme reste constellé de vacuoles disposées à la périphérie du fuseau ; cependant certaines se trouvent à l'intérieur du fuseau, parfois même au contact des chromosomes (Pl. 23 et 24, v.).

Nous avons vu à propos de l'enveloppe nucléaire — spécialisation de l'ergastoplasme — que celle-ci se résolvait à la fin de la prophase en vacuoles qui sont placées à la périphérie du fuseau en métaphase, puis se dispersent dans le cytoplasme. A l'intérieur même du fuseau, on rencontre des profils lamellaires autour desquels sont disposés des granules ressemblant aux grains de Palade du cytoplasme. Ce sont donc des coupes longitudinales de tubules.

B. — L'ergastoplasme dans les microspores et dans les grains de pollen

Dans les microspores, le cytoplasme est encore vacuolisé (Pl. 34 et 34', v). Mais au fur et à mesure que les cellules évoluent vers la première division pollinique, les vacuoles diminuent de taille sinon de nombre.

Le cytoplasme est riche en formations membranaires, en particulier en petites vésicules. Mais les grains de Palade sont moins abondants, si bien que le cytoplasme paraît moins dense que dans les cellules-mères.

En anaphase et en télophase de la première division pollinique, le phragmoplaste est riche en travées ergastoplasmiques lisses (Pl. 26 et 27, t). Il existe aussi des vacuoles (Pl. 26, v) et des vésicules (ve), abondantes au niveau de l'emplacement de la plaque cellulaire.

Dans le grain de pollen, la cellule végétative est riche en profils de l'ergastoplasme, principalement en saccules et en tubules. Les vacuoles sont moins volumineuses que dans les microspores. On voit nettement dans certains cas la liaison entre les tubules de l'ergastoplasme et les vacuoles. (Pl. 46, fig. 1, rencontre entre l'ergastoplasme (er) et la vacuole (v) ; Pl. 3, flèches).

Le cytoplasme de la cellule reproductrice jeune possède également des membranes de l'ergastoplasme. Mais quand la cellule vieillit, le cytoplasme ne forme plus qu'une mince couche autour du noyau, avec seulement quelques saccules arrondis, des tubules et des vacuoles (Pl. 29, fig. 2).

La cellule reproductrice jeune a sa membrane ectoplasmique contiguë à la membrane pecto-cellulosique commune avec la cellule végétative. A mesure

que le grain de pollen mûrit, un décollement de plus en plus profond s'opère. Nous avons primitivement interprété cette disposition comme pouvant être due à l'action plasmolysante du fixateur (CHARDARD, 1958). Des observations ultérieures nous ont montré que ce décollement est normal et provient de la déshydratation progressive du grain de pollen, car le décollement est d'autant plus important que le grain de pollen est plus âgé.

III. — DISCUSSION

1) LES GRAINS DE PALADE.

L'ergastoplasme comprend une partie membranaire et une partie granuleuse formée de grains de Palade.

Nous avons retrouvé dans le cytoplasme des cellules-mères de microspores d'Orchidées des granules denses de 100 Å environ d'épaisseur qui répondent à la description donnée des grains de Palade. Mais ils sont le plus souvent libres et non pas liés aux membranes. Ce type de structure est analogue à celui qui a été observé par BUVAT (1958) dans les cellules méristématiques du point végétatif d'*Elodea canadensis*.

On sait qu'une partie des grains de Palade se trouve dans les culots de centrifugation, mélangée avec des débris membranaires variés pour constituer ce que CLAUDE appelle des « microsomes » (ces grains sont ceux qui sont fixés sur les membranes de l'ergastoplasme). L'autre partie est contenue dans le liquide surnageant d'où on peut l'extraire par sédimentation à grande vitesse.

BERNHARD, GAUTIER et ROUILLER (1954) ont montré que les microsomes n'étaient pas une unité morphologique, mais s'appliquaient à une fraction d'ultracentrifugation. Actuellement, on admet, après les recherches de PALADE et SIEKEWITZ (1955-1956), que les grains de Palade sont des molécules de ribonucléoprotéines et qu'ils sont responsables de la basophilie du cytoplasme. La similitude entre les RNP du nucléole et ceux du cytoplasme, les expériences d'incorporation d'éléments marqués (VINCENT, 1955) ont suggéré que le nucléole est le lieu de multiplication des molécules spécifiques de RNA qui sont ensuite transférées dans le cytoplasme. Mais tous les auteurs ne sont pas d'accord sur cette origine. BERNHARD (1959) pense que « les granules de RNP, au moins chez les Vertébrés, ont leur origine dans le cytoplasme et ne viennent pas tels quels du nucléole ». Il ne trouve en effet aucun gradient de structure ergastoplasmique qui irait en décroissant depuis l'enveloppe nucléaire jusqu'à la périphérie, au cours de la régénération des cellules. Quant à l'origine des membranes, on en est réduit aux suppositions.

Nous avons vu à propos du nucléole que, chez les Orchidées, cet organite ne comportait pas de granules de la taille des grains de Palade et qu'il semblait même filamenteux. Si le nucléole est à l'origine des grains de Palade, la

substance qui les compose doit donc subir des remaniements de structure. Il faut toutefois remarquer que leur apparence au microscope électronique est le résultat de l'action du fixateur sur les RNP et que l'on ignore les modifications de structure subies par cette substance en présence de l'osmium.

Mais l'origine des grains de Palade n'est pas seule à prêter à discussion. Leur existence même a été mise en doute par SJÖSTRAND et BAKER (1958). Ils ont observé que les cellules pancréatiques de Souris fixées par « freezing-drying » ne présentaient pas de grains osmiophiles de 150 Å, ni aucun autre composé pouvant leur correspondre. Cette absence est surprenante, d'autant plus qu'il est difficile de considérer ces granules comme un artéfact dû à l'osmium, puisqu'ils ont été mis en évidence après fixation au formol. Mais la fixation au permanganate de K ne fait pas non plus apparaître de « grains de Palade » (WHALEY et collaborateurs, 1960 ; PORTER et MACHADO, 1960). Cependant leur existence est confirmée par les recherches de SENO et YOSHIZAWA (1960) qui, après freezing-drying, ont observé des grains de ribonucléoprotéine au microscope électronique.

L'analyse chimique a montré la réalité des RNP dans le cytoplasme. Toutefois, on peut se demander si les grains de Palade existent bien dans la cellule vivante et s'ils ne représentent pas un aspect des RNP après fixation.

2) EVOLUTION DE L'ERGASTOPLASME AU COURS DE LA MATURATION DES CELLULES-MÈRES DES MICROSPORES D'ORCHIDÉES.

Les membranes intracytoplasmiques des cellules-mères des grains de pollen ont un aspect différent de celui des cellules animales. En effet, dans la plupart de celles-ci, les membranes, nombreuses, parallèles, sont situées les unes à côté des autres, révélant l'abondance des saccules.

Chez les Végétaux, les saccules ne sont nombreux et disposés parallèlement les uns aux autres que dans les cellules méristématiques. Dans les cellules-mères de microspores âgées, les coupes montrent la prédominance des saccules aplatis sur les tubules. Ces éléments sont dispersés dans la cellule, sans aucune orientation particulière. Les grains de Palade sont abondants et répartis de façon homogène dans tout le cytoplasme. Au cours de la méiose hétérotypique, il se produit donc un gonflement des saccules par hydratation qui aboutit à la formation de grosses vacuoles.

Dans les microspores et les grains de pollen, la densité du cytoplasme augmente, ainsi que la quantité des grains de Palade. On suppose donc, en l'absence d'observation, que la mitose homéotypique est marquée par la régression progressive du système vacuolaire et par la densification du cytoplasme.

On peut faire un parallèle entre ces observations et celles de BUVAT (1958 b) sur les cellules du méristème apical d'*Elodea canadensis* : les grains de Palade sont d'autant moins abondants que la cellule est plus différenciée.

3) L'APPAREIL VACUOLAIRE.

Cet appareil a été peu étudié par les cytologistes, qui décrivent dans la cellule animale l'appareil de Golgi, l'ergastoplasme, le chondriome, mais non l'appareil vacuolaire. Aussi règne-t-il une grande incertitude, conséquence de son faible développement, en ce qui concerne son origine dans la cellule animale. Dans son étude sur le vacuome de la cellule animale, HOVASSE (1956) conclut à la généralité de sa présence chez les Métazoaires ; il constate en outre l'existence de rapports, au moins de situation, avec la zone de Golgi.

L'appareil vacuolaire, par contre, est bien développé dans les cellules végétales, au moins dans les cellules différenciées.

La morphologie et l'évolution des vacuoles ont été découvertes principalement grâce aux observations au microscope photonique de GUILLIERMOND et de P. A. DANGEARD qui utilisèrent les techniques de coloration vitale au rouge neutre, colorant qui se fixe électivement sur les colloïdes vacuolaires lorsque la cellule est vivante. Mais la spécificité du vacuome n'avait pas toujours été reconnue, puisque GUILLIERMOND lui-même assimilait Golgi, trophosponge et vacuome.

Le mérite revient à BUVAT d'avoir précisé au microscope électronique la notion de vacuoles en montrant qu'elles ne sont que des dilatations localisées d'enclaves dont les membranes plasmiques limitantes ont le même aspect que celles de l'ergastoplasme. Cette assimilation redonne tout son sens à l'unité de structure entre cytoplasme animal et végétal et évite toutes les confusions qui avaient pu s'établir entre les différents appareils.

Dans le cas particulier des Orchidées, on assiste dans les cellules-mères des microspores à une évolution en deux temps. Dans une première période qui s'étend sur toute la méiose (la fin de cette période ne peut être fixée avec certitude, car nous avons peu d'images de la mitose homéotypique), on observe une vacuolisation progressive du cytoplasme. Dans une deuxième période, qui englobe les microspores et les grains de pollen, la taille des vacuoles régresse et on assiste à une différenciation des plastes. Une étude ultérieure permettra de préciser les modalités de cette transformation.

G. PY (1932) résume ainsi ses recherches sur l'évolution du système vacuolaire dans les microspores des plantes vasculaires : « Dans les cellules primordiales, les vacuoles sont toutes petites et peu nombreuses. Elles augmentent un peu de nombre et de grosseur pendant la maturation des cellules-mères, puis diminuent de volume, mais deviennent encore plus nombreuses pendant les mitoses réductrices, tout en demeurant éparses dans le cytoplasme, sans aucune localisation dans une région quelconque. Elles grossissent lorsque la jeune spore est formée et confluent à un moment donné en une grosse vacuole centrale qui se divise bientôt en vacuoles

nombreuses et assez grosses dans lesquelles, chez les Filicinées et les Equisetinées, on peut mettre en évidence des composés phénoliques. »

Nous rencontrons dans la première partie de l'évolution des cellules-mères de microspores d'Orchidées une transformation analogue, à cette différence près qu'il n'y a pas confluence en une vacuole unique et que les vacuoles régressent, au moins en volume, après la méiose.

*
* *

LA PELLICULE ECTOPLASMIQUE

I. — HISTORIQUE

Extérieurement, le cytoplasme est toujours nettement limité par une membrane, dont la nature même n'a pas toujours été élucidée. Les physiologistes l'ont interprétée beaucoup plus comme une différenciation physico-chimique du cytoplasme périphérique que comme une réalité.

Le microscope électronique a montré que les cellules animales et végétales étaient entourées par une zone dense de 80 Å d'épaisseur : la pellicule ectoplasmique qui se présente souvent comme une seule lame osmiophile ; cependant elle paraît parfois constituée par deux lames denses séparées par un espace clair de 20 à 25 Å d'épaisseur.

Sa nature a donné lieu à discussion. En effet, sur les pièces fixées au tétroxyde d'osmium, elle apparaît dense, mais l'opacité n'est pas due à la réduction du tétroxyde d'osmium par suite de la présence d'une couche lipidique. En effet, elle est tout aussi dense après fixation au formol, fixateur qui n'a pas d'affinités spéciales pour les graisses.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — La pellicule ectoplasmique des cellules-mères des microspores d'Orchidées

Il existe autour des cellules-mères des microspores une pellicule ectoplasmique sous forme d'un liséré dense de 80 Å d'épaisseur (Pl. 39). Le plus souvent la pellicule ectoplasmique est simple, mais, en quelques points, elle paraît formée de deux lamelles (flèches) séparées par un espace clair de 30 à 40 Å d'épaisseur.

Elle est souvent décollée de la paroi pecto-cellulosique à laquelle elle adhère pourtant sur le vivant, par suite de la turgescence de la cellule. Ce décollement peut être le résultat de l'hypertonie du fixateur qui impose un départ d'eau à la cellule au moment de la fixation. Mais il est dû aussi à la présence d'accidents qui, normalement, viennent déformer la surface de la cellule : les invaginations.

B. — Les invaginations

La pellicule ectoplasmique présente des invaginations parfois assez larges (Pl. 39 ; Pl. 44, fig. 2, i). En dessous de la pellicule ectoplasmique, dans le cytoplasme, on rencontre également des vésicules isolées, limitées par une double membrane (Pl. 39, double flèches). Ce sont des invaginations qui ont été coupées en dehors du pédicule qui les relie à la pellicule ectoplasmique ou bien des invaginations qui se sont isolées par étranglement, dans le cytoplasme. Elles diffèrent des vacuoles, car elles possèdent une double membrane et leur contour est souvent plus dense.

III. — DISCUSSION

1) L'ULTRASTRUCTURE DE LA PELLICULE ECTOPLASMIQUE.

Nous avons vu que la pellicule ectoplasmique, épaisse de 80 Å environ, était peut-être subdivisée en deux lignes denses séparées par un espace clair de 30 à 40 Å d'épaisseur. ANDRÉ et ROULLER (1956) ont observé une subdivision analogue dans la membrane nucléaire de l'ovocyte de l'Araignée.

En fait, cette dualité de la membrane, qui ne se remarque qu'à fort grossissement, semble être une propriété générale de toutes les membranes, qu'elles soient golgiennes, mitochondriales, nucléaires ou ectoplasmiques. Il serait donc possible d'étendre à toutes ces membranes les conceptions de ROBERTSON (1959) : une membrane serait une unité de 75 Å subdivisée en trois parties : deux couches denses de 20 Å séparées par un espace clair. SJÖSTRAND et ses collaborateurs (1953, 1954 a) pensent que les parties claires représentent les feuillet lipidiques disparus. En effet, au cours du traitement, les éléments lipidiques en couches très minces se dissolvent et démasquent ainsi un espace clair.

D'après cette hypothèse, une membrane serait faite d'un feuillet bimoléculaire de lipides unis par leurs pôles hydrophiles à une couche de molécules protéiques.

Mais l'observation de la dualité de la pellicule ectoplasmique reste malgré tout assez limitée. Le plus souvent, elle paraît simple. Ce fait est trop fréquent pour qu'on puisse l'attribuer uniquement aux incidences de la coupe. Il faut alors penser que la structure de la pellicule ectoplasmique est masquée et que cet empâtement est en rapport avec l'activité physiologique de la membrane.

2) LES INVAGINATIONS.

BUVAT et LANCE (1957) ont décrit dans la cellule végétale des invaginations de la pellicule ectoplasmique et ils les ont mises en relation avec un

phénomène : la *pinocytose*. Celui-ci peut être décrit comme la formation d'une dépression de la pellicule ectoplasmique qui évolue en vacuole par pincement. La vacuole est entraînée à l'intérieur de la cellule par les mouvements du cytoplasme. Si la vacuole est pleine de liquide, on dit que l'on a affaire à la « pinocytose ».

Ce phénomène a été observé sur le vivant par LEWIS, en 1931, qui a pu ensuite le cinématographier à partir de cultures d'histiocytes. Mais c'est PALADE qui, en 1956, a fait le rapprochement entre les invaginations de la pellicule ectoplasmique et le phénomène décrit sous le nom de « pinocytose ». On suppose qu'il intervient dans l'incorporation d'eau et de substances dissoutes suivant un processus qui ne suit pas les lois découvertes par les physiologistes et que l'on classait sous le nom de « phénomène biologique » précisément parce qu'il n'obéissait à aucune loi connue. Le microscope électronique n'apporte pas la preuve que les substances pénètrent par cette voie, il permet seulement de dire que ce phénomène est possible.

Chez les Orchidées, les invaginations à doubles membranes, bien que peu fréquentes, n'en existent pas moins d'une manière nette. Il y a d'autres cas où il est difficile de dire quelle est l'origine des vésicules proches de la pellicule ectoplasmique, car elles n'ont qu'une paroi simple. Mais la pellicule ectoplasmique elle-même paraît assez souvent simple. Par suite du caractère statique des observations au microscope électronique, on ne peut savoir si ce sont des invaginations de la pellicule ectoplasmique ou des vacuoles qui se rapprochent de la périphérie, pour venir crever à l'extérieur.

Il n'y a pas de relations bien nettes entre la présence d'invaginations et un stade donné. Cependant, la pellicule des microspores est plus lisse que celle des cellules-mères, ce qui traduit une moins grande activité.

En conclusion, on peut donc dire que la pellicule ectoplasmique n'est pas une zone inerte subissant passivement les effets du cytoplasme sous-jacent. Elle est au contraire très active, mais le caractère statique des observations faites au microscope électronique n'est pas apte à mettre en évidence ses mouvements. On pense que les différents accidents observés au microscope électronique traduisent l'activité de cette zone. Mais on ne pourra l'affirmer qu'à partir du moment où les risques d'artéfacts seront éliminés.

*
**

LE CHONDRIOME ET LE PLASTIDOME

Nous traiterons ensemble ces deux catégories d'organites qui, au microscope électronique, ont une structure voisine lorsqu'ils sont très jeunes, mais qui sont nettement différenciés à l'état adulte.

I. — HISTORIQUE

A. — Les anciennes interprétations du chondriome et du plastidome

La difficulté d'interprétation des premiers stades de l'évolution de ces deux classes d'organites explique la divergence d'opinion qui opposait les tenants de la cytologie classique. En schématisant à l'extrême, on peut dire que deux courants d'opinion s'étaient dégagés sur leur origine : pour GUILLIERMOND et ses élèves — reprenant les idées de LEWITSKI — les plastes dérivent de certains chondriosomes ; il y aurait donc deux classes de chondriosomes génétiquement distincts : les uns, dits inactifs parce qu'ils n'interviennent pas dans les synthèses, sont à l'origine du chondriome ; les autres, à fonction élaboratrice, constitueraient le plastidome. Pour d'autres auteurs, parmi lesquels P. A. DANGEARD, les chondriosomes et les plastes évoluent indépendamment les uns des autres dans certains groupes végétaux et sont toujours distincts.

Ces opinions, apparemment contradictoires et sans possibilité de compromis, nous semblent, vues avec recul, surtout une querelle de mots : car dire qu'il y a deux catégories de chondriosomes, dont l'une à l'origine des plastes, ne nous paraît pas éloigné, du point de vue morphologique, de l'idée émise quand on parle de « plastes mitochondriformes ».

B. — Les chondriosomes

1) LA STRUCTURE DES CHONDRIOSOMES AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE.

On pouvait espérer que les recherches sur l'ultrastructure du cytoplasme allaient trancher le problème. Dans les coupes ultra-minces, on peut observer l'ultrastructure des chondriosomes des Animaux et distinguer :

— Une paroi faite de deux membranes de 45 à 55 Å d'épaisseur, séparées par un espace clair de 70 Å.

— Une substance homogène ou « matrix », plus claire que les membranes mais généralement plus dense que le cytoplasme.

— Un système de « crêtes » provenant des replis de la membrane interne de la paroi qui s'insinuent dans la « matrix ». Ces lames sont plus ou moins abondantes ; elles sont généralement transversales, parfois longitudinales. Mais dans certaines cellules (par exemple les cellules sécrétrices des Vers à soie) et chez les Protozoaires, on rencontre des replis tubulaires, parallèles ou perpendiculaires à l'axe de la mitochondrie.

Sur les rapports entre les crêtes et la membrane, la plupart des auteurs pensent actuellement que les crêtes sont en continuité avec la membrane interne, suivant l'idée émise primitivement par PALADE.

Chez les Végétaux, la structure interne des chondriosomes est peu diffé-

rente de celle des Animaux. Il arrive plus fréquemment que les crêtes soient remplacées par des tubules.

Si les mitochondries des cellules activement synthétisantes sont bien pourvues en crêtes et ressemblent à celles des cellules animales, celles des cellules méristématiques et des cellules différenciées, mais peu synthétisantes, au contraire, sont riches en substance fondamentale et pauvres en crêtes (BUVAT, 1958 ; LANCE, 1958).

2) ORIGINE ET ÉVOLUTION DES CHONDRIOSOMES.

La description qui vient d'être faite correspond à des mitochondries pleinement développées, mais elle ne donne aucun renseignement sur leur origine. On admet communément qu'une mitochondrie provient d'une mitochondrie préexistante par division. Cependant, on a trouvé dans certains cas, dans les cellules régénérantes par exemple, des formations arrondies, denses, homogènes au microscope électronique, qui ont reçu des noms variés : « dense bodies », « microbodies », « lysosomes ». On ne possède aucune preuve directe qu'elles évoluent en mitochondries ; mais leur apparition coïncide souvent avec une période de régénérescence de la cellule. Ces formations représenteraient les pro-mitochondries, dont l'existence a été soupçonnée par FREY-WYSSLING (1955) et que l'on peut rapprocher de l'ultra-chondriome que OBERLING et ses collaborateurs (1953) ont mis en évidence dans diverses cellules néoplasiques. LUND et ses collaborateurs (1958), dans les cellules méristématiques de la racine de Maïs, ont observé des organites à l'aspect dense et homogène, qu'ils interprètent comme des mitochondries homogènes, non différenciées. Mais BUVAT (1958) pense que ces formations sont plutôt des proplastides. Il est difficile de trancher, car la fixation paraît douteuse.

Cependant l'idée de la formation « *de novo* » des mitochondries a déjà été émise. Après avoir immergé pendant quelque temps des poils aériens de *Cucurbita pepo* dans de l'acide acétique, P. DANGEARD (1942) remarqua la vésiculation suivie de la dégénérescence des mitochondries. Si l'expérience est arrêtée à temps, on obtient une survie des cellules qui sont alors privées de leur chondriome. Mais une cellule ainsi lésée peut reformer des mitochondries, qui seraient ainsi produites « *de novo* ».

Nous évoquerons ultérieurement les idées de BUVAT (1959) sur les formations trouvées au voisinage de la plaque cellulaire. Elles sont favorables à une néoformation des mitochondries.

C. — Les plastes

L'ultrastructure des plastes différenciés ou même des plastes jeunes est bien connue et ne donne lieu à aucune ambiguïté. Il n'en est pas de même des plastes très jeunes ou proplastides.

STRUGGER (1950), puis STRUGGER et PERNER (1956), étudiant des cellules méristématiques, pensent que les proplastés ont toujours une structure différente de celle des chondriosomes.

Toutefois, certains auteurs comme LEYON (1956) font des réserves sur cette séparation. Des recherches plus récentes montrèrent les difficultés qu'il y avait souvent à distinguer chondriosomes jeunes et proplastés. Encore que les critères utilisés ne soient pas toujours satisfaisants. D'après les recherches les plus récentes, nous résumerons ainsi les caractères des proplastés :

- leur taille est légèrement supérieure à celle des chondriosomes ;
- ils sont moins riches en crêtes ou tubules ;
- de petites granulations osmiophiles sont parfois présentes.

On doit cependant reconnaître que, dans certains cas, les différences sont assez subjectives, ce que les auteurs notent eux-mêmes en parlant « d'éléments de caractère non défini » (CAPORALI, 1959). Comme le dit d'ailleurs BUVAT, on est en présence d'une différence d'ordre quantitatif plutôt que qualitatif.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Etude du chondriome-plastidome chez *Oncidium splendidum*

L'étude du chondriome-plastidome a été faite chez *Oncidium splendidum* seulement au cours de la prophase hétérotypique.

1) DIFFÉRENCIATION CHONDRIOME-PLASTIDOME.

Sur la planche 35, on observe des chondriosomes et des plastés. Leur aspect est assez voisin : ils sont formés tous deux par une paroi de 150 Å d'épaisseur, dense, constituée de deux membranes épaisses de 40 à 50 Å d'épaisseur chacune, séparées par un espace clair. Leur contenu est clair avec de rares formations membranaires. C'est leur taille qui permet de faire le mieux la différenciation. Les chondriosomes (m , m_1 , m_2 , etc...) ont un diamètre qui n'excède pas 0,5 μ , alors que les plastés (pl) atteignent et même dépassent le micron.

2) LE CHONDRIOME.

a) Structure.

Les chondriosomes (Pl. 35, m , m_1 , m_2 , m_3 , m_4 , m_5), de forme arrondie ou légèrement ovale en coupe, possèdent de très rares crêtes courtes dans une substance fondamentale très claire aux électrons. A la périphérie et autour des crêtes, elle est légèrement plus dense (m_4 et m_5). En m_1 , la substance

fondamentale, légèrement plus dense, est répartie d'une façon plus homogène que dans les autres chondriosomes ; par contre, elle ne contient aucune crête. En plus, il existe deux granulations osmiophiles (flèches).

b) Répartition.

La répartition du chondriome n'est pas homogène. L'ensemble des vues de cellules prises à faible grossissement ne montre que peu de mitochondries. A fort grossissement, on remarque qu'elles peuvent être localement abondantes (Pl. 35).

3) LES PLASTES.

Les cellules-mères des microspores d'*Oncidium splendidum* ont un cytoplasme riche en plastes assez semblables les uns aux autres. Ils sont caractérisés par leur forme, arrondie ou ovale, leur grande taille qui atteint et même dépasse le micron, et leur structure (Pl. 35 ; Pl. 37, fig. 2, pl).

En coupe, ils sont limités par une paroi de 150 Å d'épaisseur, formée de deux membranes denses séparées par un espace clair. La structure de cette membrane est visible en certains points seulement (Pl. 37, fig. 2, flèches) ; ailleurs, elle est évanescence. A l'intérieur, on trouve des poches (Pl. 37, fig. 2, po) qui représentent sans doute des crêtes dilatées. Dans certains cas, il ne reste plus que quelques rares crêtes (Pl. 37, fig. 1, flèche) dont on observe de courts segments dans la coupe. Parfois la section de plaste est complètement dépourvue de crêtes (Pl. 37, fig. 1, plaste situé à droite).

Souvent on distingue de petites granulations osmiophiles (Pl. 37, fig. 2, go) situées dans la substance fondamentale au voisinage des crêtes. Leur taille varie de 130 à 390 Å.

La substance fondamentale est partout particulièrement claire aux électrons, ce qui indique qu'elle est très diluée.

B. — Etude du chondriome-plastidome chez *Aerides houilletianum*

Cette étude a été entreprise dans les cellules-mères au début de la méiose et dans les cellules en tétrades et les grains de pollen.

A la prophase hétérotypique, on observe dans le cytoplasme :

1) Des mitochondries avec des crêtes internes assez longues et une substance fondamentale claire (Pl. 40, fig. 2, m).

2) Des proplastides allongés qui peuvent atteindre 2 μ de longueur et 200 à 300 m μ de diamètre (Pl. 40, fig. 2, lc). A l'intérieur, on observe une substance fondamentale assez dense et des crêtes allongées parallèlement aux parois. Dans le cas de la Pl. 40, fig. 2 (lc), elles restent localisées dans la partie médiane de l'organite. Sur les coupes transversales, on remarque

très bien la disposition concentrique des crêtes. Ces organites ressemblent par leur forme à ceux que CAPORALI (1958) a rencontrés dans les cellules méristématiques radiculaires de *Lens culinaris* et qu'il interprète comme des proplastates en forme de chondriocontes se transformant en leucoplastes.

Dans les microspores, les chondriosomes possèdent des crêtes serrées les unes contre les autres et formant des paquets (Pl. 42, fig. 2, flèches). Cette disposition s'atténue dans le grain de pollen, où les crêtes remplissent presque tout l'intérieur du chondriosome (Pl. 41, m), sauf dans quelques cas (flèches). On observe en outre quelques petites granulations osmiophiles. Les proplastates présentent une structure analogue à celle qu'ils avaient dans les cellules-mères (Pl. 41, Pp). Certains possèdent en outre une vésicule amylière (am) (Pl. 42, fig. 1, lc) ; ils se transforment donc en leucoplastes.

C. — Etude du chondriome-plastidome chez *Vanda boshii*

A la fin de la prophase I, le cytoplasme de *Vanda boshii* contient des chondriosomes typiques, de section elliptique (Pl. 43, m ; Pl. 45, fig. 1, m₁), riches en crêtes internes, souvent dilatées en poches, s'insinuant dans une substance fondamentale moyennement dense. D'autres, plus petits, possèdent des crêtes plus courtes et moins abondantes dans une substance fondamentale plus claire (Pl. 45, m₂, m₃, m₄).

A côté, on rencontre également des plastates de forme ovoïde (Pl. 45, fig. 1 et 2, pl), contenant une substance fondamentale très claire aux électrons, de rares lamelles (Pl. 45, fig. 2, l), quelques vésicules à contenu clair (flèches) et des granulations denses, certainement lipidiques (gs).

Dans le cytoplasme de la cellule végétative, on observe :

1) Des *chondriosomes* de 0,6 μ de diamètre et de longueur supérieure au micron (Pl. 48). Ils contiennent une substance fondamentale claire dans laquelle s'insinuent des crêtes réparties de façon homogène (« 1 ») ou localisées dans quelques régions du chondriosome (« 2 » et « 3 ») et laissant entre elles des espaces clairs (« 4 », c). Certaines crêtes renferment une substance légèrement dense, granuleuse ou filamenteuse (Pl. 48, doubles flèches).

2) Des *plastates allongés* dont le diamètre varie de 0,25 à 0,5 μ et dont la longueur atteint ou même dépasse deux microns (Pl. 46, fig. 1 ; Pl. 47). Ils présentent :

a) des crêtes parallèles à la paroi du plaste sur une grande longueur (Pl. 46, fig. 1, cr). Ce sont des replis très longs de la membrane interne de la paroi (Pl. 46, fig. 1, double flèche). D'autres crêtes naissent aussi à partir de la membrane interne (Pl. 46, fig. 1, flèches) ;

b) des piles de doubles lamelles (Pl. 46, fig. 1, l) : ce sont des grana,

plus développés dans la partie gauche du plaste que dans la partie droite. L'épaisseur d'une lamelle simple est de 45 à 60 Å ;

c) une substance fondamentale assez dense ; elle laisse des plages plus claires qui correspondent vraisemblablement à des différences d'hydratation ;

d) de grosses granulations denses (Pl. 46, fig. 1, go) de 50 à 60 m μ de diamètre, déposées dans la substance fondamentale. Elles sont peut-être de nature lipidique ; leur nombre n'est jamais très grand ;

e) de petites granulations denses de 60 à 75 Å de diamètre, abondantes et déposées irrégulièrement dans la substance fondamentale au voisinage des crêtes et des lamelles granaires. Leur présence n'est pas constante ; elles possèdent une certaine ressemblance avec les « foamy particles » du nucléole et le problème de leur réalité est le même.

3) *D'autres plastes* (Pl. 50, en bas et à gauche) possèdent au centre une accumulation de granules denses de 70 à 80 Å de diamètre, séparés par une distance de 80 Å. Leur disposition pseudo-cristalline est analogue à celle qui existe dans le « granum primaire » de certains proplastes, bien qu'il existe des différences. Dans le cas de la planche 50, le proplaste situé en bas et à gauche contient non pas un, mais deux « granums primaires » (gp et gp'). Le « granum » (gp) est en relation avec des doubles lamelles (flèche), qui semblent être la prolongation de crêtes. Le « granum » (gp') est enveloppé par une membrane simple (double flèche). Enfin la crête (cr) présente une série de constriction, comme si elle était formée par une suite de vésicules. Le reste du proplaste est rempli par une substance fondamentale plus ou moins homogène.

4) *Des formations para-membranaires.* A l'anaphase de la première division pollinique, au voisinage de la plaque cellulaire, on rencontre deux organites différents de ceux décrits classiquement au microscope électronique. Ce sont :

— un organite ovalaire de 75 $\times$ 150 m μ , limité par une simple membrane et rempli d'une substance dense et homogène (Pl. 28, flèche en haut, à droite) ;

— un organite piriforme, de taille plus grande que le précédent (150 $\times$ 450 m μ), limité également par une simple membrane (Pl. 28, entouré de flèches, en bas et à gauche). Son contenu est clair, avec quelques profils de lames ou de tubules à l'intérieur. Il est possible que ce soit une mitochondrie en coupe subtangentielle.

III. — DISCUSSION

A. — Evolution du chondriome-plastidome chez *Oncidium splendidum*

1) LE CHONDRIOME (Pl. 35).

Les chondriosomes décrits chez *Oncidium splendidum* sont différents de ceux habituellement observés dans les cellules végétales différenciées. On ne retrouve pas l'abondance de crêtes (ou de tubules) qui est un caractère spécifique des chondriosomes matures.

Cependant, par leur taille, par la rareté de leurs crêtes, ils se rapprochent de la description qu'a donnée BUVAT (1958 b) des chondriosomes des cellules méristématiques qui « ... sont relativement riches en substance fondamentale finement granuleuse et sont pauvres en crêtes internes ». Il y a toutefois une différence : la substance fondamentale est ici très claire aux électrons, parce que très peu abondante.

Nous pensons que les chondriosomes du début de la méiose d'*Oncidium splendidum* sont des chondriosomes immatures. Cette interprétation est suggérée par leur ressemblance avec les mitochondries immatures des cellules méristématiques. Cependant il existe quelques différences, en particulier la présence de granulations osmiophiles, qui sont en général l'apanage des plastes. Toutefois CAPORALI (1959) montre dans sa planche 15 trois mitochondries avec des granulations osmiophiles.

2) LES PLASTES (Pl. 36, fig. 1 ; Pl. 37, fig. 1 et 2).

Au début de la méiose, les plastes ont un aspect analogue à celui des organites décrits lors de l'initiation des méristèmes floraux de *Chrysanthemum segetum* par LANCE (1960). Cet auteur a en effet suivi la régression des chloroplastes et a vu qu'ils donnaient des organites arrondis d'assez grande taille, contenant peu de crêtes et pauvres en substance fondamentale.

Nous pouvons donc considérer ces organites comme des plastes non différenciés, mais nous ne savons pas de quelle catégorie de plastes ils proviennent : aussi jeunes que nous ayons prélevé les anthères, elles possédaient déjà des plastes non lamellisés. Le peu d'éléments qui subsiste à l'intérieur ne nous permet pas de dire s'ils dérivent de chloroplastes.

B. — Evolution du chondriome-plastidome chez *Aerides houlletianum*

(Pl. 40, fig. 2 ; Pl. 41 ; Pl. 42, fig. 1 et 2)

Les chondriosomes des cellules-mères et ceux des microspores sont bien pourvus en crêtes. Leur structure rappelle donc celle des cellules activement synthétisantes des feuilles jeunes et adultes.

Les plastes sont à l'état indifférencié dans les cellules-mères et dans les microspores. Cependant, dans ces dernières, la différenciation commence à devenir visible : certains proplastes présentent une vésicule amylofère (Pl. 42, fig. 1, am). On peut donc les considérer comme des leucoplastes jeunes (Pl. 42, fig. 1, lc).

C. — Evolution du chondriome-plastidome chez *Vanda boshii*

1) LES CHONDRIOSOMES (Pl. 45, fig. 1 ; Pl. 48 ; Pl. 49).

Les chondriosomes de *Vanda boshii* sont des éléments allongés, mais volumineux si on les compare à ceux d'*Oncidium splendidum*. Leurs crêtes sont assez longues et peu nombreuses. Ce caractère les rapproche des chondriosomes des cellules méristématiques.

2) LES PLASTES (Pl. 46, fig. 1 ; Pl. 47 ; Pl. 50).

Les plastes des microspores de *Vanda boshii* sont très différents de ceux des cellules-mères : dans ces dernières, ils sont ovoïdes, avec une substance fondamentale très claire et quelques segments de lamelles ou de tubules. Ces caractères les rapprochent des plastes observés chez *Oncidium splendidum* et les font interpréter comme des plastes indifférenciés ou proplastes.

Dans les microspores, la lamellisation ininterrompue, qui aboutit à la formation de doubles lamelles granaires, indique le début de l'évolution en chloroplastes. Certaines lamelles doubles présentent des constriction (Pl. 46, fig. 1, c) qui annoncent leur morcellement ou leur confluence. Dans la partie gauche de la même figure, on remarque que les grana sont séparés par un stroma homogène, ne présentant pas de différenciation en lamelles intergranaires (Pl. 46, s).

Cette différenciation des chloroplastes à partir de plastes indifférenciés a été bien observée par BUVAT (1958) et LANCE (1958) dans les cellules du méristème apical. Ces auteurs ont pu constater que les lamelles du chloroplaste provenaient de l'augmentation du nombre des crêtes, de leur croissance et de leur rapprochement.

3) LA STRUCTURE DU « GRANUM PRIMAIRE ».

Les accumulations de granules denses de 80 Å de diamètre, dans la substance fondamentale de certains plastes, ressemblent aux formations appelées par différents auteurs « granum primaire ». Leur localisation, leur arrangement régulier faisant penser à un réseau, le suggèrent fortement.

Ce dernier aspect est dû à la superposition de plusieurs plans de

granules. Par suite de l'obliquité de la coupe sur le plan des granules, on observe des rangées parallèles faisant entre elles des angles variés et donnant à la formation un aspect pseudo-cristallin (bien visible Pl. 50 (gp) en haut et à gauche).

Toutefois, la plupart des auteurs ont observé dans le granum primaire, non des granules, mais des vésicules dont le diamètre varie de 170-180 Å (PERNER, 1957) à 250 Å (HODGE et ses collaborateurs, 1956). Le diamètre des granules est deux à trois fois plus petit que celui des vésicules.

Cependant SITTE (1961) a trouvé dans le méristème radiculaire de *Pois* des granules osmiophiles de 60 Å de diamètre dont l'accumulation constitue un granum primaire.

Nous pensons donc que les amas de granules osmiophiles des plastes de microspores d'Orchidées sont des granums primaires.

4) LES CONDITIONS DE FORMATION DES « GRANUMS PRIMAIRES ».

La présence *constante* d'un « granum primaire » dans les jeunes plastes a été signalée par de nombreux auteurs (STRUGGER, 1954, 1957 b ; PERNER, 1956 ; HODGE et ses collaborateurs, 1956). Mais cette constance a été niée avec autant de force par d'autres auteurs (VON WETTSTEIN, 1957, 1959 ; HEITZ, 1957 ; BUVAT, 1958 ; LANCE, 1958).

Actuellement, après les travaux de MÜHLETHALER et FREY-WYSSLING (1959) et de LEFORT (1960), on peut considérer qu'il existe deux voies d'évolution des chloroplastes.

Lorsque les cellules d'une plantule se développent à la lumière, les replis de la lamelle interne de la paroi du proplaste produisent directement, sans interruption, des lamelles de stroma et de grana.

Quand les plantules sont cultivées à l'obscurité, de petites vésicules se forment dans les proplastides. Leur accumulation dans le stroma constitue le « granum primaire ». Si les cellules de la plante reçoivent alors une quantité suffisante de lumière, les vésicules disparaissent en produisant des doubles lamelles, qui évoluent en lamelles de grana. Les lamelles du stroma apparaissent ultérieurement.

La présence de plastes possédant un « granum primaire » indique que les microspores d'Orchidées se sont développées dans une obscurité relative ; ce qui s'explique par l'existence de parois anthéridiales épaisses qui forment un écran protecteur autour des microspores.

Mais la différenciation des lamelles de grana montre qu'une quantité de lumière suffisante pour induire l'évolution des lamelles de grana a filtré à travers la couche protectrice des cellules anthéridiales.

5) LES GRANULATIONS OSMIOPHILES.

Nous avons décrit des granulations osmiophiles de 60-70 Å de diamètre, présentes uniquement dans les plastes pourvus de lamelles granaires. On

ne peut certes rejeter *a priori* l'hypothèse d'un artéfact de fixation. Cependant, dans la même coupe, d'autres organites ayant également des membranes lipoprotéiques ne montrent pas de telles granulations. Leur aspect les rapproche des « foamy particles » du nucléole. Mais comme la composition chimique de ces dernières est inconnue, on ne peut pousser plus avant la comparaison.

Ces granulations rappellent, par leur aspect et par leur taille, les macromolécules globulaires observées par SITTE (1959) dans les proplastides des cellules radiculaires de *Pisum sativum* où elles sont groupées en amas dans la substance fondamentale. Leur présence serait constante dans les proplastides et, d'après SITTE, elles seraient l'équivalent du « granum primaire » de STRUGGER. Dans les cellules radiculaires de *Lens culinaris*, CAPORALI (1959) rencontre parfois de petits amas analogues, groupés dans les plastides amylofères, mais jamais dans les proplastides les plus jeunes.

Il nous est difficile de dire si les granulations observées dans les plastides jeunes des microspores de *Vanda boshii* sont de même nature, car ici ils sont dispersés.

Leur présence dans les jeunes plastides chlorophylliens suggère de les interpréter comme des amas de macromolécules d'une substance participant à l'édification des lamelles granaires.

D. — L'évolution des plastides

Dans l'espèce *Vanda boshii*, où nous avons obtenu des termes de comparaison, les plastides du début de la méiose sont indifférenciés (fait corroboré par les observations du cytoplasme d'*Oncidium splendidum*) puis se différencient en plastides chlorophylliens à la fin de la méiose.

Chez *Aerides houilletianum*, au début de la méiose, on trouve des leucoplastes, c'est-à-dire des organites déjà différenciés. Dans les microspores, par contre, on observe, à côté de mitochondries nombreuses et bien pourvues en crêtes, des plastides indifférenciés ou proplastides (Pl. 41, Pp.). La présence de ces derniers fait supposer qu'il y a eu à la fin de la méiose une dédifférenciation des plastides.

Il est donc permis de penser qu'au cours de la méiose il se produit une dédifférenciation des plastides, dédifférenciation qui intervient à un moment variable suivant les espèces : très tôt chez *Oncidium splendidum*, à la fin de la méiose chez *Aerides houilletianum*. Toutefois d'autres études sont nécessaires pour savoir si ce phénomène est général.

E. — Le cytoplasme reproducteur

Toutes les observations relatives au chondriome et au plastidome ont été faites sur le cytoplasme des microspores ou de la cellule végétative du grain de pollen, qui a hérité de tous les organites de la microspore. En

effet la *pellicule de cytoplasme qui entoure le noyau reproducteur est dépourvue de chondriosomes et de plastes.*

Nous avons déjà signalé ce fait (CHARDARD, 1958) et nous avons conclu que l'absence de ces organites était d'une grande importance du point de vue de l'hérédité cytoplasmique s'il était général. Les recherches ultérieures effectuées sur d'autres espèces d'Orchidées nous ont confirmé l'absence de chondriome et de plastidome dans la cellule reproductrice. Par contre BOPP-HASSENKAMP (1960) a vu, dans la cellule du tube pollinique de *Lilium* et de *Fritillaria*, des plastides et des chondriosomes. Il serait intéressant de faire le rapprochement entre l'absence de mitochondries et de plastes dans la cellule génératrice et les cas de matroclinie. Ceux-ci ont été signalés chez les Orchidées (DUNCAN, 1959).

F. — Les néoformations osmiophiles

Nous avons décrit des formations difficiles à classer parmi les organites habituellement observés au microscope électronique ; on pourrait seulement rapprocher les « formations piriformes » des « néoformations osmiophiles et orientées » pourvues de membranes parallèles et paraissant entourées d'une pellicule, que BUVAT et PUISSANT (1958) ont signalées à proximité de la plaque cellulaire d'*Allium cepa*. Plus tard, BUVAT (1959) a précisé cette notion : dans le phragmoplaste de *Triticum vulgare*, il voit apparaître *de novo*, d'abord des dictyosomes, « puis les dispositions des membranes plasmiques esquissent fréquemment, au voisinage immédiat de la plaque cellulaire, des contours et des crêtes qui préfigurent des mitochondries en formation ». Les formations piriformes pourraient donc être à l'origine des mitochondries, bien qu'elles soient nettement plus petites chez les Orchidées que chez *Triticum vulgare*.

On peut encore interpréter les formations piriformes comme la coupe subtangentielle d'une mitochondrie. Mais la position de cette mitochondrie est alors très importante, car elle indique qu'elle s'est formée *de novo* dans le phragmoplaste.

A côté des « formations piriformes » existent des organites d'aspect différent appelés « formations denses ». Alors que les mitochondries néoformées ont un contenu clair, peu différent du cytoplasme qui les entoure, et contiennent quelques crêtes, les « formations denses » ressemblent plutôt aux « microbodies » signalés d'abord par RHODIN (1954) dans les bordures en brosse des cellules rénales de Souris, puis par ROUILLER et BERNHARD (1956) dans les cellules du foie en régénérescence. Ces derniers auteurs considèrent que les « microbodies » sont des précurseurs des mitochondries. GENEVÈS, LANCE et BUVAT (1958) ont décrit, en les comparant à des « lysosomes », des organites analogues trouvés dans diverses catégories de cellules végétales. Nous pensons que les « formations denses » pourraient être des « microbodies ».

Nous devons indiquer que ces formations sont rares dans le phragmoplaste de la première division pollinique. Mais cette rareté n'implique pas pour cela que la formation *de novo* de mitochondries ne soit pas un phénomène répandu, car la cellule génératrice du grain de pollen est totalement dépourvue de chondriome et de plastidome. Il est donc normal que le phragmoplaste de cette division présente peu d'organites précurseurs.

*
* *

LA MATIÈRE FONDAMENTALE DU CYTOPLASME

A. MAYER et SCHAEFFER (1908), GUILLIERMOND (1929) ont défini la constitution physique du cytoplasme de la cellule végétale et démontré qu'il apparaît toujours optiquement vide à l'ultramicroscope.

Depuis ces dates un certain nombre d'éléments inconnus à cette époque ont été décrits, dont la masse réduit d'autant le cytoplasme fondamental, mais ne l'abolit pas. On peut donc définir le cytoplasme fondamental comme la partie du cytoplasme dans laquelle on ne rencontre aucune structure définie et constante. Pour cette raison il est souvent appelé « Hyaloplasme ». Mais il faut bien convenir que si son importance a beaucoup diminué depuis ces dates, sa connaissance reste toujours vague et cela tient à nos techniques de fixation : le tétr oxyde d'osmium, excellent pour fixer les membranes lipoprotéiques, ne permet pas d'observer avec certitude les macromolécules de l'hyaloplasme.

Au microscope électronique, on remarque, autour des éléments de l'ergastoplasme, une substance dense, homogène ou granuleuse, avec quelquefois des fins filaments. Des espaces clairs sont également attribués à la matière fondamentale et sont dus au départ, au cours du traitement, des molécules globulaires, localisées dans le cytoplasme fondamental, qui constituent des édifices beaucoup plus plastiques et par là-même plus fragiles que les autres éléments. Ce que nous avons appelé matière fondamentale du cytoplasme représente donc plus leur emplacement que l'hyaloplasme lui-même.

*
* *

LES PLASMODESMES

I. — HISTORIQUE

A. — Recherches au microscope photonique

Les cellules végétales sont entourées par une membrane pecto-cellulosique rigide. Mais ce n'est pas une barrière absolument continue : elle est

en effet perforée d'orifices par lesquels les cytoplasmes peuvent communiquer. On donne, depuis STRASBURGER (1901), le nom de *plasmodesmes* aux tractus cytoplasmiques qui traversent ces perforations. Dans la plupart des cellules les plasmodesmes sont trop fins pour être étudiés au microscope photonique avec précision. MANGENOT (1924) a montré dans l'appareil sporogène des Rhodophycées où les perforations peuvent atteindre des dimensions élevées (jusqu'à 100 μ), que les cytoplasmes à l'intérieur des canalicules étaient seulement contigus et se touchaient sans se confondre. Pour un tel couple de membranes, MANGENOT (1926) a proposé le nom de « synapse ». Dans les tubes criblés, des dispositions analogues ont été décrites. Et l'on a admis par extrapolation que les plasmodesmes ordinaires possédaient des synapses semblables, sans en avoir la preuve directe, car ils sont en dessous de la limite de la visibilité au microscope photonique.

B. — Les recherches au microscope électronique

Nous n'envisagerons ici que les recherches qui ont été faites sur des coupes extra-minces. STRUGGER (1957 a et c) a montré, dans les cellules méristématiques de la racine d'*Allium cepa*, la continuité des cytoplasmes au travers de la paroi cellulaire, et l'absence de synapse. Ces plasmodesmes ont un diamètre de 300-400 Å, mais il pense qu'il se produit une contraction par suite de la fixation et que le diamètre des « pores » est de 1 000 à 2 000 Å *in vivo*. Ces mesures sont du même ordre de grandeur que celles rencontrées par ROCLOFS et HOUWINK (1951) sur des électronographies de fragments desséchés de membrane cellulaire de poils staminaux de *Tradescantia*. STRUGGER a dénombré 6-7 plasmodesmes par micron carré et il estime qu'une cellule méristématique de 20 μ de longueur possède de 10.000 à 20.000 plasmodesmes, ce qui représente une surface d'échange considérable.

A la même date, BUVAT (1957 c, puis en 1960) a précisé la structure des plasmodesmes dans les cellules méristématiques ou parenchymateuses des racines d'*Allium cepa* et *Triticum vulgare*. Il a montré la continuité de la pellicule ectoplasmique des deux cellules en contact et la striation de la substance traversant le canalicule, ce qui lui suggère qu'il y a un passage direct de l'ergastoplasme entre les deux cellules.

En collaboration avec M^{lle} PUISSANT (1958), il a éclairci la question de l'origine des plasmodesmes. Ces derniers ne s'installent pas postérieurement à l'édification des membranes, par régression localisée de celles-ci, mais, au contraire, ce sont des ponts de substance phragmoplastique qui subsistent lors de la télophase, entre les deux cellules-sœurs. L'installation des plasmodesmes est donc antérieure à celle de la membrane.

Depuis cette date, l'existence des plasmodesmes a été signalée maintes

fois. Nous-même en avons trouvé (1958) de nombreux chez les Orchidées, faisant communiquer les grains de pollen d'une même tétrade.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

LES PLASMODESMES DES ORCHIDÉES AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

On observe des plasmodesmes géants dans les cellules-mères primordiales et au cours de la méiose.

Après la méiose, les plasmodesmes sont plus fréquents entre les quatre cellules issues d'une même cellule-mère (chez les Orchidées les cloisons apparaissent en effet simultanément). Par contre entre la cellule végétative et la cellule génératrice, si on observe des ponts de cytoplasme parfois assez importants à la télophase, les communications se rompent assez vite, vraisemblablement à cause de la rétraction de la cellule génératrice.

Il est étonnant de trouver des ponts cellulaires entre des cellules aussi individualisées que les microspores et les grains de pollen. Nous avons pu constater la continuité parfaite entre les cytoplasmes de deux cellules voisines à travers le canal plasmodesmique. On remarque parfois une augmentation de matériel dense au milieu du plasmodesme. Elle n'est pas due à une synapse, mais à une accumulation de membranes osmiphiles, très serrées dans cette partie.

Certaines images prouvent qu'il y a bien continuité entre les deux cytoplasmes et que les synapses ne sont pas possibles. On voit en effet quelquefois des organites (chondriosomes ou plastes) engagés dans le canalicule et passer dans la cellule voisine, ce qui ne pourrait pas se produire s'il y avait interruption de la continuité des cytoplasmes par les deux pellicules ectoplasmiques (Pl. 46, fig. 2).

Les plasmodesmes sont dans ce cas de diamètre exceptionnellement grand et sont ainsi différents des plasmodesmes rencontrés habituellement. Sur la Pl. 39, on peut observer des plasmodesmes « normaux » (pd) coupés tangentiellement et un plasmodesme de grande taille (au milieu de la figure) dans lequel est engagé le noyau.

*
* *

LA CYTOMIXIE

I. — HISTORIQUE

A. — La cytomixie au microscope photonique : considérations générales et définition

Différents auteurs ont remarqué que le noyau des cellules-mères de microspores au stade synzégésis vient souvent au contact de la paroi cellu-

laire, expulse de la chromatine qui émigre alors dans la cellule-mère voisine. A ce phénomène, GATES (1911) a donné le nom de « cytomixie ».

La migration du noyau et « l'extrusion » de la chromatine avaient été observés dans les cellules de *Lilium candidum* par WEST et LECHMERE, en 1915, qui l'avaient interprétée comme une extrusion de produits de déchet. Mais cette question amena une assez longue controverse, certains confirmant, d'autres infirmant la réalité du passage du noyau d'une cellule à l'autre. C'est ainsi que Miss DIGBY (1909), GATES (1911), WEST et LECHMERE (1915) pensent que les migrations observées ne sont pas des artefacts et que par conséquent ce phénomène est normal. Par contre FRASER (1914), YASUI (1921), DE LITARDIÈRE (1925) considèrent que c'est un phénomène pathologique.

KAMRA (1960) a étudié la cytomixie et l'extrusion de chromatine dans les cellules-mères des microspores d'Orge. Il distingue en effet « l'extrusion chromatique », qui est le rejet d'un fragment de chromatine ou même d'un chromosome dans le cytoplasme de la cellule présentant cette anomalie, tandis que le terme « cytomixie » s'applique à l'échange des fragments entre cellules.

B. — La cytomixie au microscope électronique

BOPP-HASSENKAMP (1960) a donné des images de cytomixie dans les cellules-mères de microspores de *Gasteria trigonia* : des fragments de chromatine sont situés dans la cellule voisine et reliés, par un pédicule traversant un canalicule de la membrane, au noyau de la cellule située à côté. Mais les photographies, si elles montrent sans contestation les relations des divers paquets chromatiques avec le noyau voisin, ne permettent pas d'observer la structure fine de chaque partie.

II. — OBSERVATIONS PERSONNELLES

A. — Etude de la cytomixie au microscope photonique

Au microscope photonique, nous avons pu mettre en évidence des cas de cytomixie dans les cellules-mères de microspores d'Orchidées : on constate qu'il y a extrusion de la chromatine du noyau d'une cellule dans le cytoplasme d'une autre cellule. On observe alors contre la membrane, dans la cellule mitoyenne, de petites boules colorées en rouge violacé après la réaction de Feulgen. Elles sont reliées par de très fins trabécules Feulgen + au noyau de la cellule voisine, à travers la membrane pecto-cellulose (Fig. 12).

On remarque ce phénomène à des moments variés, en particulier lors de la première contraction, stade auquel elle a été décrite par les auteurs

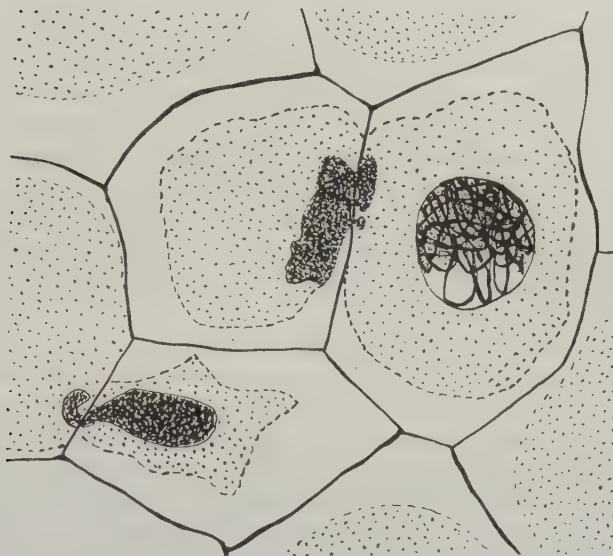


FIG. 12. — *Aerides falcatum* (fixation : Navaschine) : exemples de cytomixie entre les cellules-mères de microspores, au stade de la première contraction (Gross. : environ 1.500).

ci-dessus cités. Mais nous l'avons également remarquée dans les grains de pollen.

B. — Etude de la cytomixie au microscope électronique

Nous avons observé la cytomixie au microscope électronique à différents stades. La Pl. 39 en donne un bel exemple au moment de la première contraction. Le fragment exilé (Ne) est petit : ses dimensions sont ici de $240 \times 720 \text{ m}\mu$. Il est limité par une enveloppe faite d'une double membrane parfaitement distincte en certains endroits, beaucoup moins à d'autres. Il ne semble pas qu'il y ait de pores. A l'intérieur la chromatine est constituée de filaments faiblement osmiophiles, analogues à ceux du noyau dont ils sont issus. Des décollements localisés (d) existent entre la chromatine et l'enveloppe nucléaire.

La perforation de la membrane pecto-cellulosique par laquelle passe le pédicule nucléaire est un cylindre de $72 \times 190 \text{ m}\mu$. Sa partie médiane est très dense et la structure du pédicule y est effacée. De l'autre côté de la perforation, le pédicule se poursuit dans le cytoplasme pendant $360 \text{ m}\mu$ avant de rejoindre le noyau (N) dont il est issu.

La planche 24 nous offre un exemple d'expulsion de la chromatine à l'extérieur de la cellule, dans l'espace intercellulaire (il est difficile d'ap-

peler ce phénomène cytomixie ; nous préférons le terme « expulsion ») au moment de la métaphase I. On distingue dans la cellule un groupe de chromosomes (ch), puis un fragment de chromatine presque totalement sorti de la cellule par une perforation (p), de 2 000 Å de diamètre en coupe. Le plan de coupe passe à l'extérieur de la plus grande partie de la masse expulsée. A l'extérieur il y a seulement quelques fibrilles très osmophiles de 120 Å de diamètre, reliées avec la masse engagée dans la perforation. Cette masse est elle-même composée de fibrilles parallèles entre elles et perpendiculaires à la surface de la cellule.

Dans les microspores et dans les grains de pollen on observe assez fréquemment des cas de cytomixie. La planche 51, fig. 1, présente des exemples de cytomixie multiple entre les quatre grains de pollen 1, 2, 3 et 4 d'une même tétrade. Dans un cas, on remarque nettement le tractus reliant les deux fragments de noyau végétatif (flèche). Ailleurs, bien que les liaisons ne soient pas sur le plan de la coupe (doubles flèches), elles se laissent deviner par suite de la densité plus grande des noyaux végétatifs migrants (ne) : on voit bien la différence dans le grain de pollen 1 où coexistent le noyau végétatif autochtone d'aspect clair et les deux fragments « émigrés » (ne) provenant l'un du noyau végétatif du grain de pollen 2 et l'autre du noyau végétatif du grain de pollen 3 ou 4, bien que les communications ne soient pas visibles sur la figure. Il semble même que dans le grain de pollen 1 l'enveloppe nucléaire séparant les deux chromatines soit effacée.

La planche 52, fig. 1, permet de mieux préciser les rapports entre le noyau « émigré » et le noyau « autochtone » : les enveloppes nucléaires visibles en certains points (flèches) semblent disparaître au niveau des plasmodesmes et à la jonction entre les deux parties du noyau. Il n'existe plus aucune barrière entre la chromatine du noyau en place (nv_2) et celle du noyau « exilé » (ne) (Pl. 52, fig. 1) ; cependant elles restent bien individualisées. L'enveloppe nucléaire du noyau végétatif paraît subir un processus de vésiculation, car elle est prolongée par une série de vésicules (v).

Dans un autre cas (Pl. 52, fig. 2) la masse de chromatine du noyau exilé reste localisée au niveau du canalicule. Il existe entre elle et son enveloppe un décollement représenté par un espace clair (v).

Dans ces deux cas, comme dans celui de la Pl. 51, fig. 1, les noyaux reproducteurs ne figurent pas sur les coupes de ces cellules. Cependant nous estimons que ce sont des grains de pollen et non des microspores parce que les cellules voisines sont des grains de pollen et que l'évolution des cellules est synchrone.

III. — DISCUSSION

1) L'examen des figures de cytomixie précise la réalité de l'échange de chromatine entre les cellules. Les parties émigrées conservent une structure

analogue à celle du noyau en place et on ne peut parler, au moins à ce stade, d'une dégénérescence de la chromatine. Mais on ignore ce qu'elle devient par la suite. KAMRA (1960) signale qu'elle peut donner naissance à des chromosomes surnuméraires, quand les fragments sont pourvus d'une activité centromérique.

On remarque cependant que les fragments nucléaires « exilés » sont, au microscope électronique, plus opaques que le contenu du noyau en place. Il faut rapprocher cette observation du fait qu'après la réaction de Feulgen, les noyaux « exilés » paraissent, au microscope photomicrographique, plus violemment colorés en rouge que les noyaux normaux.

2) La cytomixie a été décrite comme étant le passage d'un noyau ou d'un fragment de noyau d'une cellule dans une autre cellule. Il peut même y avoir mélange (temporaire ou définitif) des chromatines des noyaux végétatifs, noyaux qui par leur destinée normale sont en voie de dégénérescence. Ceci confirmerait donc l'hypothèse de ceux qui voient dans la cytomixie un phénomène pathologique, mais n'indique pas la cause de la cytomixie.

On peut penser que les noyaux « émigrés » dans une cellule sont des fragments de chromatine restés en arrière lors de l'anaphase et demeurés dans le cytoplasme par suite du développement de la plaque cellulaire. Cette hypothèse est admissible en ce qui concerne les cellules en tétrades et les grains de pollen, bien que nous n'ayons pas suivi ce processus. Mais elle n'est plus valable pour les cas de migration nucléaire qui se produisent au début de la méiose, en particulier lors de la première contraction. Dans ce cas il n'y a pas développement de la plaque cellulaire pour expliquer la présence de chromatine dans la cellule voisine. Le passage du noyau à travers les perforations de la paroi serait peut-être dû à un mouvement propre du noyau.

3) KAMRA n'observe la cytomixie dans les cellules-mères des microspores d'Orge qu'en méiose et seulement à partir du pachytène. Chez les Orchidées, on la remarque, en méiose, dès la première contraction, et aussi entre les cellules d'une même tétrade. Le moment de la cytomixie n'est donc pas étroitement déterminé.

BIBLIOGRAPHIE

OUVRAGES GÉNÉRAUX

- BRACHET (J.). — Biochemical cytology. Acad. Press Incorp. Publishers, New-York, 1957.
- DANGEARD (P.). — Cytologie végétale et cytologie générale. Lechevalier édit., Paris, 1947.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de cytologie végétale. Le François édit., Paris, 1933.
- HUGHES (A.). — The mitotic cycle. Butterworths Scientific publication, London, 1952.
- PALAY (S. L.). — Frontiers in cytology. Yale university Press édit., New Haven, 1958.
- POLICARD (A.) et BAUD (C. A.). — Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus. Masson et Cie édit., Paris, 1958.
- SERRA (J. A.). — Chemistry of the nucleus ; fine structure of the nucleus. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I, Springer Verlag édit., Berlin, pp. 413-71, 1955.
- VENDRELY (R. et C.). — L'acide désoxyribonucléique, substance fondamentale de la cellule vivante. A. Legrand édit., Paris, 1957.

LITTÉRATURE CITÉE

- AFZELIUS (B.). — The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea Urchin oocyte as studied with the electron microscope. *Exptl. Cell Res.*, **8**, 147-58, 1955.
- ALFERT (M.). — Composition and structure of giant chromosomes. *Int. Rev. Cyt.*, **3**, 131-69, 1954.
- AMANO (S.). — The structure of the centriole and spindle body as observed under the electron and phase contrast microscope. *Cytologia*, **22**, 193-212, 1957.
- AMANO (S.), DOTTI (S.), TANAKA (H.), UCHINO (F.) and HANAOKA (M.). — The structure of the nucleus studied by electron microscopy in ultrathin sections with special reference to the chromonema. An advocacy of « subchromonema » and « protochromonema ». *Cytologia*, **21**, 241-51, 1956.
- ANDERSON (N. G.). — On the nuclear envelope. *Science*, **117**, 517-21, 1953.
- ANDERSON (E.) and BEAMS (H. W.). — Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 439-44, 1956.
- ANDRÉ (J.) et ROUILLER (Ch.). — L'ultrastructure de la membrane nucléaire des ovocytes de l'Araignée (*Tegenaria domestica* Clerk). *Proc. conf. electr. micr. Stockholm*, 162-64, 1956.
- BAIRATI (A.) und LEHMANN (F. E.). — Ueber die submikroskopische Struktur der Kernmembrane bei *Amoeba proteus*. *Experientia*, **8**, 60-61, 1952.
- BAJER (A.). — Cine-micrographic studies on mitosis in endosperm. III The origin of the mitotic spindle. *Exptl. Cell Res.*, **13**, 493-502, 1957.
- BARER (R.), JOSEPH (S.) and MEEK (G. A.). — Nucleo-cytoplasmic interrelationship in Locust spermatogenesis. 4^e Cong. Micr. electr. Berlin, 1958 ; Springer Verlag édit., Berlin, pp. 233-36, 1960.
- BARNES (B. G.) and DAVIS (J. M.). — The structure of nuclear pores in mammalian tissue. *J. Ultrastr. Res.*, **3**, 131-46, 1959.
- BAUD (C. A.). — Recherches sur les aspects microscopiques de la membrane nucléaire dans la cellule animale. *Bull. hist. appl.*, **25**, 112-21, 1948.
- Sur la constitution chimique de la membrane nucléaire. *Bull. hist. appl.*, **26**, 12-21, 1949 a.

- Morphologie submicroscopique de la membrane nucléaire. *Bull. hist. appl.*, **26**, 99-110, 1949 b.
- Destruction et reconstitution de la membrane nucléaire au cours de la mitose. *Arch. Anat. Hist. Embryol.*, **34**, 43-48, 1952.
- La couche cytoplasmique périnucléaire étudiée au microscope électronique. *Acta Anat.*, **31**, 588-89, 1957.
- non publié; cité dans « Ultrastructure et fonctions de la membrane nucléaire », Problèmes d'ultrastructure et de fonctions nucléaires, pp. 22-23, Masson et Cie édit., Paris, 1959.
- BEAMS (H. W.), EVANS (T. C.), BREEMEN (V.) and BAKER (W. W.). — Electron microscope studies on structure of mitotic figure. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **74**, 717-20, 1950.
- BEAMS (H. W.), TAHMISIAN (T. N.), DEVINE (R.) and ANDERSON (E.). — Ultrastructure of the nuclear membrane of a Gregarine parasitic in Grasshoppers. *Exptl. Cell Res.*, **13**, 200-4, 1957.
- BECKER (W. A.). — Recent investigations in vivo on the division of plant cells. *Bot. rev.*, **4**, 446-472, 1938.
- BEERMANN (W.) and BAHR (G.). — The submicroscopic structure of the Balbiani ring. *Exptl. Cell Res.*, **6**, 195-201, 1954.
- BENNETT (H. S.). — The concept of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, suppl. **2**, 99-103, 1956.
- BERNHARD (W.). — Ultrastructural aspects of nucleocytoplasmic relationship. *Exptl. Cell Res.*, suppl. **6**, 17-50, 1959.
- BERNHARD (W.), GAUTIER (A.) et OBERLING (Ch.). — Eléments fibrillaires de nature probablement ergastoplasmique dans le cytoplasme de la cellule hépatique, révélés au microscope électronique. *C. R. Soc. Biol.*, **145**, 566, 1951.
- BERNHARD (W.), HAGUENAU (F.) et OBERLING (Ch.). — L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales révélée au microscope électronique. *Experientia*, **8**, 58, 1952.
- BERNHARD (W.), GAUTIER (A.) et ROULLIER (Ch.). — La notion de microsomes et le problème de la basophilie cytoplasmique. *Arch. Anat. Micr. et Morph. exp.*, **43**, 236-75, 1954.
- BERNHARD (W.), BAUER (A.), GROPP (A.), HAGUENAU (F.) et OBERLING (Ch.). — L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses. *Exptl. Cell Res.*, **9**, 88-100, 1955.
- BERNHARD (W.) et HARVEN (E. de). — L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique. 4^e Congr. intern. de M. E. Berlin, 1958, Springer Verlag, édit., Berlin, pp. 217-227, 1960.
- BLOOM (W.). — Submicroscopic changes in the « paling » of irradiated parts of chromosomes. 10^e Congr. internat. Biol. cellul., Paris, 1960.
- BOPP-HASSENKAMP (G.). — Lichtmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen über den Aufbau pflanzlicher Chromosomen in Pachytän der Meiosis. *Protoplasma*, **50**, 243-68, 1959 a.
- « Cytomixis » im elektronenmikroskopischen Bild. *Exptl. Cell Res.*, **18**, 182-84, 1959 b.
- Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Pollenschläuchen zweier Liliaceen. *Zeitsch. f. Naturf.*, **15**, 91-94, 1960.
- BORYSKO (E.) and BANG (F. B.). — Structure of the nucleolus as revealed by the electron microscope. Proc. 9^e Cong. E.M.S.A., II, 1951.
- BRACHET (J.). — La détection histochimique des acides pentosenucléiques. *C. R. Soc. Biol.*, **133**, 88-90, 1940.
- BRANDT (P. N.) and PAPPAS (G. D.). — Mitochondria. II, The nuclear-mitochondrial relationship in *Pelomyxa carolinensis* Wilson (*Chaos chaos* L.). *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, **6**, 91-95, 1959.
- BUVAT (R.). — Relations entre l'ergastoplasme et l'appareil vacuolaire. *C. R. Acad. Sci.*, **245**, 350-52, 1957 a.
- Formations de Golgi dans les cellules radiculaires d'*Allium cepa* L. *C. R. Acad. Sci.*, **244**, 1401-03, 1957 b.

- BUVAT (R.). — L'infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes. *C. R. Acad. Sci.*, **245**, 198-201, 1957 c.
- Recherches sur les infrastructures du cytoplasme, dans les cellules du méristème apical, des ébauches foliaires et des feuilles développées d'*Elodea canadensis*. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, **19**, 121-61, 1958.
 - Sur la néoformation de mitochondries à partir du phragmoplaste, dans le méristème radiculaire du Blé. *C. R. Acad. Sci.*, **248**, 1014-17, 1959.
 - L'infrastructure des plasmodesmes, dans les cellules parenchymateuses, des cordons conducteurs jeunes de *Cucurbita pepo* L. *C. R. Acad. Sci.*, **250**, 170-72, 1960.
 - Int. Rev. Cyt., **12**, Acad. Press, N.-Y. and London édit., 1961, à paraître.
 - et CARASSO (N.). — Mise en évidence de l'ergastoplasme (réticulum endoplasmique) dans les cellules méristématiques de la racine « d'*Allium cepa* » L. *C. R. Acad. Sci.*, **244**, 1532-34, 1957.
 - et LANCE (A.). — Configuration submicroscopique de la pellicule ectoplasmique (ou membrane cytoplasmique de diverses cellules végétales). *C. R. Acad. Sci.*, **245**, 2083-85, 1957.
 - et PUISSANT (A.). — Observations sur la cytodierèse et l'origine des plasmodesmes. *C. R. Acad. Sci.*, **247**, 233-36, 1958.
- CALLAN (H. G.) and TOMLIN (S. G.). — Experimental studies on Amphibian oocyte nuclei. I Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. Roy. Soc. London*, **137**, 367-78, 1950.
- CAMEFORT (H.). — Structure des filaments de chromatine du noyau de l'ospère chez le *Pinus Laricio* (var. *austriaca*). Etude en microscopie électronique. *C. R. Acad. Sci.*, **249**, 1790-92, 1959.
- CAMP (G. M. van). — Le rôle du nucléole dans la caryocinèse somatique (*Clivia miniata* Reg.). *La Cellule*, **34**, 5-48, 1924.
- CAPORALI (L.). — Infrastructure et évolution des plastides du méristème radiculaire de *Lens culinaris* L. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 1263-65, 1958.
- Recherches sur les infrastructures des cellules radiculaires de *Lens culinaris* L. et particulièrement sur l'évolution des leucoplastes. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, **20**, 215-47, 1959.
- CASPERSSON (T.). — Über die Rolle der Desoxyribosenukleinsäure bei der Zellteilung. *Chromosoma*, **1**, 147-56, 1939-40.
- Die Eiweissverteilung in den Strukturen des Zellkerns. *Chromosoma*, **1**, 562-604, 1939-40.
 - Cell growth and cell function. Norton édit. New-York, 1950.
- CHAMBERS (R.) and FELL (H. B.). — Micro-operations on cells in tissue cultures. *Proc. roy. Soc. London*, **109**, 380-403, 1931.
- CHARDARD (R.). — L'ultrastructure des grains de pollen d'Orchidées. *Rev. Cyt. et Biol. végétales*, **19**, 223-44, 1958.
- L'ultrastructure des chromosomes prophasiques méiotiques. *C. R. Acad. Sci.*, **249**, 1386-88, 1959.
 - Etude au microscope électronique de la reconstitution de la membrane nucléaire au cours de la télophase d'une Orchidée. *C. R. Acad. Sci.*, **250**, 902-4, 1960 a.
 - L'ultrastructure des chromosomes métaphasiques d'une Orchidée. Etude au microscope électronique. *C. R. Acad. Sci.*, **250**, 1894-96, 1960 b.
- CHATTON (E.). — Technique de double inclusion à l'agar et à la paraffine pour microtomie, avec orientation ou en masse, d'objets très petits. *C. R. Soc. Biol.*, **88**, 199-202, 1923.
- CHAUVEAU (J.), MOULÉ (Y.) et ROUILLER (Ch.). — Localisation de l'acide ribonucléique dans les diverses structures morphologiques des microsomes de foie de Rat. *Exp. Cell Res.*, **13**, 398-400, 1957.
- CHAYEN (J.). — The structure of root meristem cells of *Vicia faba*. *Sympos. Soc. exp. Biol.*, **6**, 290-305, 1952.
- CLAUDE (A.). — Problèmes de fixation et de coloration en microscopie électronique. 10^e Congr. int. de Biol. cellul., Paris, 1960.
- COHEN (A. I.). — Electron microscopic investigations of *Amoeba proteus* in growth and inanition. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, **3**, 859-65, 1957.

- DALES (S.). — A study of the fine structure of mammalian somatic chromosomes. *Exptl. Cell Res.*, **19**, 577-90, 1960.
- DALTON (A. J.). — A study of the Golgi material of hepatic and intestinal epithelial cells with the electron microscope. *Z. Zellsforsch.*, **36**, 522-40, 1952.
- DALTON (A. J.) and FELIX (M. D.). — A study on the Golgi substance and ergastoplasm in a series of mammalian cells. Symposium on fine structure of cells, Leiden, 1954, pp. 274-93, Noordhoff, édit., Gröningen, Pays-Bas.
- DALTON (A. J.) and FELIX (M. D.). — Cytologic and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis, *in situ*, in homogenates and after isolation. *Amer. J. Anat.*, **94**, 171, 1954.
- DALTON (A. J.), KAHLER (H.), STRIEBICH (M. J.) and LLOYD (B.). — Fine structure of hepatic intestinal and renal cells of the Mouse, as revealed by the electron microscope. *J. Nat. Cancer. Inst.*, **11**, 439-61, 1950.
- DANGEARD (P.). — Recherches sur les modifications du protoplasme dans des conditions permettant la survie de la cellule. *Le Botaniste*, **31**, 189-266, 1942.
- DARLINGTON (C. D.) and LACOUR (L. F.). — Nucleic acid starvation of chromosomes in *Trillium*. *J. of genetics*, **40**, 185, 1940.
- DASS (C. M. S.) and RIS (H.). — Submicroscopic organization of the nucleus during spermiogenesis in the Grasshopper. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 129-32, 1958.
- DE (D. N.). — Ultrastructure of nuclear membrane of Plant cells. *Exptl. Cell Res.*, **12**, 181-84, 1957.
- DERMEN (H.). — Origin and behaviour of the nucleolus in Plants. *J. Arnold Arboretum Harv. Univ.*, **14**, 282-323, 1933.
- DIGBY (L.). — Observation on « chromatin bodies » and their relation to the nucleus in *Galtonia canadensis* Decsne. *Ann. Bot.*, **23**, 491-502, 1909.
- DUNCAN (R. E.). — Orchids and cytology. The Orchids, the Ronald Press Company edit., New-York, pp. 189-260, 1959.
- DURYEE (W. R.). — Chromosome physiology in relation to nuclear structure. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, **50**, 920-53, 1950.
- EICHHORN (A.). — Sur les divers stades de la mitose de l'*Hyacinthus orientalis* et, comparativement de l'*Allium cepa*. *C. R. Acad. Sci.*, **186**, 778, 1928.
- A propos du synzesis. *C. R. Acad. Sci.*, **230**, 1200-01, 1950.
- Contribution à l'étude caryologique du genre *Linaria*. *Rev. Cyt. et Biol. végét.*, **13**, 117-45, 1952.
- ESTABLE (C.) and SOTELO (J. R.). — Una nueva estructura celular el nucleolonema. *Publ. Inst. Inv. Cienc. Biol. Montevideo*, **1**, 105-126, 1951.
- The behaviour of the nucleolonema during mitosis. « Fine structure of cells » Symposium, 8th. Congr. of Cell Biology, Leiden, Noordhoff édit., Gröningen, p. 170, 1954.
- FERREIRA (D.). — Thèse, Lisbonne, 1959.
- FREY-WYSSLING (A.). — Submikroskopische Morphologie des Cytoplasmas und seiner Derivate. Borntraeger édit., Berlin, 1938.
- Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. *Protoplasmatologia*, Hbd. d. Protoplasmaforsch. II A₂, Springer Verlag. édit., Vienne, 1955.
- FUGII (T.). — Presence of zinc in nucleoli and its possible role in mitosis. *Nature*, **174**, 1108, 1954.
- GALL (J. G.). — Lampbrush chromosomes from oocyte nuclei of the newt. *J. Morph.*, **94**, 283-352, 1954.
- Observations on the nuclear membrane with the electron microscope. *Exptl. Cell Res.*, **7**, 197-200, 1954.
- Small granules in the amphibian oocyte nucleus and their relationship to R.N.A. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, suppl. **2**, 393-5, 1956.
- GARNIER (Ch.). — Les « filaments basaux » des cellules glandulaires. *Bibliographie anat.*, **5**, 278, 1897.
- GATES (R. R.). — Pollen formation in *Oenothera gigas*. *Ann. Bota.*, **25**, 909-40, 1911.
- GAY (H.). — Chromosome-nuclear membrane cytoplasmic interrelations in *Drosophila*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 407-17, 1956.
- Nucleocytoplasmic relations in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Symposia*

- on *quantitative Biology*, 21, the biological laboratory, Cold Spring Harbor, N.-Y. édit., pp. 257-69, 1956.
- GENEVÈS (L.), LANCE (A.) et BUVAT (R.). — Sur la présence dans le cytoplasme et sur la nature ergastoplasmique de constituants figurés analogues aux « lysosomes » et aux « dense bodies » des cellules animales. *C. R. Acad. Sc.*, **247**, 2028-30, 1958.
- GOLDSTEIN (L.). — The mechanism of nuclear breakdown in the *Chaetopterus* egg. *Biol. Bull.*, **103**, 292, 1952.
- GRASSÉ (P. P.). — Ultrastructure, polarité et reproduction de l'appareil de Golgi. *C. R. Acad. Sc.*, **245**, 1278-81, 1957.
- GRASSÉ (P. P.), CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — L'ultrastructure des chromosomes et son évolution au cours de la spermiogénèse de l'Escargot. I. La spermatide. Nouvelle conception de la structure des chromosomes. *C. R. Acad. Sc.*, **242**, 971-75, 1956.
- Les Ultrastructures cellulaires au cours de la spermiogénèse de l'Escargot (*Helix pomatia* L.) : évolution des chromosomes, du chondriome, de l'appareil de Golgi, etc... *Ann. Sc. Nat. Zool.*, **18**, 339-80, 1956.
- et THÉODORIDÈS (J.). — L'ultrastructure de la membrane nucléaire des Grégarines. *C. R. Acad. Sc.*, **245**, 1985-86, 1957.
- et DRAGESCO (J.). — L'ultrastructure des chromosomes des Péridiniens et ses conséquences génétiques. *C. R. Acad. Sc.*, **245**, 2447-52, 1957.
- GREIDER (M. H.), KOSTIR (W. C.) and FRAJOLA (W. J.). — Electron microscopy of the membrane of *Amoeba proteus*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 445-47, 1956.
- Electron microscopy of *Amoeba proteus*. *J. Protozool.*, **5**, 139-46, 1958.
- GUENIN (H. A.) et GAUTIER (A.). — Observation sur la structure submicroscopique des chromosomes de *Blaps mucronata* Latr. (Col. Tenebr.). Note préliminaire. *Rev. Suisse Zool.*, **67**, 210-16, 1960.
- GUILLIERMOND (A.). — Nouvelles observations ultramicroscopiques sur les cellules végétales et quelques vues sur la constitution physique du protoplasme. *C. R. Soc. Biol.*, **101**, 619, 1929.
- GUYENOT (E.) et DANON (M.). — Chromosomes et ovocytes de Batraciens. Etude cytologique et au microscope électronique. *Rev. Suisse Zool.*, **60**, 1-29, 1953.
- HAGUENAU (F.). — L'appareil de Golgi vu au microscope électronique. *Bull. micr. appl.*, **5**, 18-20, 1955.
- L'ergastoplasme. *International Rev. Cytol.*, **7**, Acad. Press édit., New-York, pp. 425-83, 1958.
- et BERNHARD (W.). — L'appareil de Golgi dans les cellules normales et cancéreuses de Vertébrés. *Arch. Anat. micr. et Morph. exp.*, **44**, 27-55, 1955.
- HARRIS (P.) and JAMES (T. W.). — Electron microscope study of the nuclear membrane of *Amoeba proteus* in thin section. *Experientia*, **8**, 384, 1952.
- HARTMANN (J. F.). — Electron microscopy of motor nerve cells following section of axones. *Anat. Rec.*, **118**, 19-33, 1954.
- HARVEN (E. de) et BERNHARD (W.). — Etude au microscope électronique de l'ultrastructure du centriole chez les Vertébrés. *Z. Zellforsch.*, **45**, 378-98, 1956.
- HASSENKAMP (G.). — Der elektronenoptische Bau der pflanzlichen Kernmembran während der meiotischen Prophase. *Naturw.*, **44**, 334-35, 1957.
- HEILBRUN (L. V.) and WILBUR (K. M.). — Stimulation and nuclear breakdown in the *Nereis* egg. *Biol. Bull.*, **73**, 557-64, 1937.
- HEITZ (E.). — Das Heterochromatin der Moose. I. *Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot.*, **69**, 762-818, 1928.
- Die Ursache der gesetzmässigen Lage, Form und Grösse pflanzlicher Nucleolen. *Planta*, **12**, 495, 1931.
- Kristallgitterstruktur des Granums junger Chloroplasten von *Chlorophytum*. *Exptl. Cell Res.*, **7**, 606-8, 1954.
- Die Struktur der Chondriosomen und Plastiden im Wurzelmeristem von *Zea Mais* und *Vicia faba*. *Zeitsch. Naturf.*, **12**, 283-86, 1957 a.

- Die strukturellen Beziehungen zwischen pflanzlichen und tierischen Chondriosomen. *Zeitsch. Naturf.*, **12**, 576-82, 1957 b.
- und BAUER (H.). — Beweise für die Chromosomen-Natur der Kernschleifen in den Knaüelkernen von *Bibio hortulanus*. *Zeitsch. Zellf.*, **17**, 67-82, 1933.
- HODGE (A. J.), MAC LEAN (J. D.) and MERCER (F. V.). — A possible mechanism for the morphogenesis of lamellar systems in plant cells. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 597-608, 1956.
- HOGEBOM (G. H.) and SCHNEIDER (W. C.). — On the nuclear envelope, *Science*, **118**, 419, 1953.
- HOVASSE (R.). — Le vacuome animal. *Protoplasmatologia*, Bd. III, D., Springer Verlag édit., Vienne, 1956.
- HUREL-PY (G.). — Le nucléole des Végétaux supérieurs et la réaction de Feulgen. *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 5, 1936.
- INOUE (Sh.). — The effect of colchicine on the microscopic and submicroscopic structure of the mitotic spindle. *Exptl. Cell Res.*, suppl. **2**, 305-18, 1952.
- JOHNSTON (F. B.), SETTERFIELD (G.) and STERN (H.). — The isolation of nucleoli from ungerminated *Pea* embryos. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **6**, 53-55, 1959.
- KAMRA (Om. P.). — Chromatin extrusion and cytotoxicity in pollen mother cells of *Hordeum*. *Hereditas*, **46**, 592-600, 1960.
- KAUFMANN (B. P.). — Chromosome structure in relation to the chromosome cycle. *Bot. Rev.*, **2**, 529-54, 1936.
- and DE (N. D.). — Fine structure of chromosomes. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, suppl. **2**, 419-23, 1956.
- and McDONALD (M. R.). — Organization of the chromosome. *Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology*, **21**. The biological laboratory, Cold spring Harbor, L. I. édit. New-York, pp. 233-44, 1956.
- GAY (H.) and McDONALD (M. R.). — Organizational pattern within chromosomes. *Int. Rev. Cyt.*, **9**, Acad. Press New-York édit., pp. 77-127, 1956.
- KAUTZ (J.) and MARSH (Q. B. de). — Fine structure of the nuclear membrane in cells from the Chick embryo ; on the nature of the so called « pores » in the nuclear membrane. *Exptl. Cell Res.*, **8**, 394-96, 1955.
- KUFF (E. L.), HOGEBOM (G. H.) and DALTON (A. J.). — Centrifugal, biochemical and electron microscopic analysis of cytoplasmic particulates in liver homogenates. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 33, 1956.
- KUWADA (Y.). — The double coiled spiral structure of chromosomes. *Bot. Magaz.*, **46**, 257-58, 1932.
- KUWADA (Y.) and NAKAMURA (T.). — Behaviour of chromonemata in mitosis. VIII. The major spirals in diakinesis. *Cytologia*, **9**, 28-34, 1938.
- LAFONTAINE (J. G.). — A particulate component found in nucleoli of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 229-30, 1958 a.
- Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of *Vicia faba* and *Allium cepa*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 777-84, 1958 b.
- and RIS (H.). — An electron microscope study of lampbrush chromosomes. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 99-106, 1958.
- LANCE (A.). — Infrastructure des cellules du méristème apical et des jeunes ébauches foliaires de *Chrysanthemum segetum* L. (Composées). *Ann. Sc. Nat. Bot.*, **19**, 165-202, 1958.
- LANCE-NOUGARÈDE (A.). — Processus inframicroscopique de la régression plastidiale et d'harmonisation de la croissance de la pellicule ectoplasmique lors de l'initiation des méristèmes floraux chez *Chrysanthemum segetum* L. (Composées). *C. R. Acad. Sc.*, **250**, 3371-73, 1960.
- LEFORT (M.). — Etude de quelques mutants chlorophylliens induits chez *Lycopersicon esculentum* Mill. *Rev. Cyt. Biol. végét.*, **20**, 1-159, 1959.
- Sur la présence d'un centre plastidial dans les chloroplastes d'*Elodea canadensis*. *Rev. gen. Bot.*, **70**, 461-65, 1959.
- LEHMANN (F. E.). — Fonctionnal aspects of submicroscopic nuclear structures in

- Amoeba proteus* and of the mitotic apparatus of *Tubifex* embryos. *Exptl. Cell Res.*, suppl. **6**, 1-16, 1958.
- LETTRE (H.). — Some investigations on cell behavior under various condition. *Cancer Res.*, **12**, 847-60, 1952.
- Observations on the behaviour of the nucleolus of cells *in vitro*. *Symposium on fine structure of cells*, Noordhoff edit., Gröningen, Pays-Bas, p. 141, 1955.
- LEWIS (W. H.). — Pinocytosis. *Bull. Johns. Hosp.*, **49**, 17-27, 1931.
- LEYON (H.). — The structure of Chloroplasts. IV : The development and structure of the *Aspidistra* chloroplast. *Exp. Cell Res.*, **7**, 265-73, 1954 a.
- The structure of chloroplasts. VI : The origin of the chloroplast laminae. *Exp. Cell Res.*, **7**, 609-11, 1954 b.
- The structure of chloroplasts. *Svensk kem. Tidskr.*, **68**, 70-89, 1956.
- LITARDIÈRE (R. de). — Le phénomène de cytomixis dans des microsporocytes de *Podophyllum peltatum*. *C. R. Acad. Sc.*, **180**, 1771, 1925.
- LOWMAN (F. G.). — Electron microscope studies of *Drosophila* salivary gland chromosomes. *Chromosoma*, **8**, 30-52, 1956.
- LUND (H. A.), VATTER (A. E.) and HANSON (J. B.). — Biochemical and cytological changes accompanying growth and differentiation in the roots of *Zea mays*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 87-98, 1958.
- LUZZATI (V.) et NICOLAIEFF (A.). — Etude par la diffusion centrale des rayons X de la structure des gels aqueux de nucléoprotamines et nucléohistones et des noyaux intacts. *C. R. Acad. Sc.*, **248**, 1426-29, 1959.
- MANGENOT (G.). — Sur les communications protoplasmiques dans l'appareil sporogène de quelques Floridées. *Rev. algologique*, **1**, 376-421, 1924.
- Communications intercellulaires et synapses. *Bull. hist. appl.*, **3**, 142-60, 1926.
- Recherches sur l'action des substances mitoclasiques. I. Action de la colchicine sur les racines d'*Allium cepa*. Hermann et Cie, édit., Paris, 1942.
- MAKAROV (P. V.). — Critique des bases cytologiques de la théorie chromosomique de l'hérédité. Contre le Mendélisme-Morganisme réactionnaire, édit. de l'Académie des Sciences, Moscou, 1950. Traduit dans « Questions scientifiques II ». Les Editions de la Nouvelle critique, Paris, pp. 82-106, 1953.
- MARINOS (N. G.). — The nuclear envelope of Plant cells. *J. Ultrast. Res.*, **3**, 328-33, 1960.
- MARQUARDT (H.), LIESE (W.) und HASSENKAMP (G.). — Die elektronenmikroskopische Feinstruktur pflanzlicher Zellkerne. *Naturw.*, **43**, 540-41, 1956.
- MARTENS (P.). — Nouvelles recherches sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, **39**, 169-216, 1929.
- MAYER (A.) et SCHAEFFER (J.). — Sur la structure des gels. *C. R. Soc. Biol.*, **64**, 681, 1908.
- MC CLINTOCK (B.). — The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*. *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.*, **21**, 294-328, 1934.
- MOSES (J. M.). — Studies on nuclei using correlated cytological light and electron microscope techniques. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 397-406, 1956.
- The relation between the axial complex of meiotic prophase chromosomes and chromosome pairing in a Salamander (*Plethodon cinereus*). *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **4**, 633-38, 1958 a.
- Patterns of communication in the fine structure of chromosomes. 4^e Cong. int. Micr. électr. Berlin, 1958 b, Springer Verlag édit., Berlin, pp. 199-212, 1960.
- Breakdown and reformation of the nuclear envelope at cell division. 4^e Cong. int. Micr. électr., 1958 c, Springer Verlag, Berlin, édit., pp. 230-33, 1960.
- and TAYLOR (J. H.). — Cité par MOSES, 1958 b.
- MUHLETHALER (K.) und FREY-WYSSLING (A.). — Entwicklung und Struktur der Proplastiden. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **6**, 507-12, 1959.

- MÜLLER (H. R.). — Gefriertrocknung als Fixierungsmethode an Pflanzenzellen. *J. Ultrastr. Res.*, **1**, 109-37, 1957.
- MULNARD (J.). — Présence d'inclusions Feulgen positives dans les nucléoles larvaires de quelques Diptères. *Arch. Biol. Liège*, **67**, 485, 1956.
- NEBEL (B. R.). — On the structure of mammalian chromosomes during spermatogenesis and after radiation with special reference to core. 4^e Cong. int. Microsc. electr., Berlin, 1958, Springer Verlag, Berlin, édit., pp. 227-30, 1960.
- OBERLING (Ch.). — The structure of cytoplasm. *Int. Rev. Cyt.*, **8**, Acad. Press New-York, édit., pp. 1-31, 1959.
- BERNHARD (W.), GAUTIER (A.) et HAGUENAU (F.). — Les structures basophiles du cytoplasme et les rapports avec le cancer. — Etude au microscope électronique. *Presse médicale*, **61**, 719-24, 1953.
- PAINTER (T. S.). — Salivary chromosomes and the attack on the gene. *J. of Hered.*, **25**, 465-76, 1934.
- PALADE (G. E.). — A study of fixation for electron microscopy. *J. Exp. Med.*, **95**, 285, 1952 a.
- The fine structure of mitochondria. *Anat. Rec.*, **114**, 427-52, 1952 b.
- Fine structure of blood capillaries. *J. appl. Phys.*, **24**, 1419, 1953.
- A small particulate component of the cytoplasm. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **1**, 59-68, 1955.
- The endoplasmic reticulum. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 85-98, 1956.
- and PORTER (K. R.). — The endoplasmic reticulum of cells *in situ*. *Anat. Rec.*, **112**, 370, 1952.
- and SIEKEVITZ (P.). — Liver microsomes. An integrated morphological and Biochemical study. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 171-98, 1956.
- A correlated structural and chemical analysis of microsomes. *Anat. Record.*, **121**, 347, 1955.
- PALAY (S. L.) and PALADE (G. E.). — The fine structure of neurons. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **1**, 69-88, 1955.
- PAPPAS (G. D.). — Helical structures in the nucleus of *Amoeba proteus*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 221-23, 1956 a.
- The fine structure of the nuclear envelope of *Amoeba proteus*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 431-4, 1956 b.
- and BRANDT (P. W.). — Helical structures in the nuclei of free living amoeba. 4^e Cong. int. Micr. électr. Berlin, 1958, Springer Verlag édit., pp. 244-46, 1960.
- PEASE (D. G.) and BAKER (R. F.). — Preliminary investigations of chromosomes and genes with the electron microscope. *Science*, **109**, 8-10, 1949.
- PERNER (E. S.). — Die ontogenetische Entwicklung der Chloroplasten von *Chlorophytum comosum*. I. Die Persistenz der Primärgranum und seine fragile Kristallgitter-Struktur im Proplastid. *Zeitsch. f. Naturf.*, **11**, 560-67, 1956.
- Die Ontogenese der Chloroplasten von *Chlorophytum comosum*. *Proc. Stockholm conf. on electr. Micr.*, 1956, pp. 272-73.
- Zum augenblicklichen Stand der mikroskopischen Erforschung der Pflanzenzelle. *Natur. Rundschau*, **1**, 6-13, 1957.
- PISCHINGER (A.). — Untersuchungen über die Kernstruktur besonders über die Beziehungen zwischen Struktur im Leben und nach Fixierung. *Z. Zellforsch.*, **26**, 249, 1937.
- Ueber die Struktur des Zellkernes. *Protoplasma*, **39**, 567-87, 1950.
- PORTER (K. R.). — Changes in cell fine structure accompanying mitosis. Symp. on fine structure of cells, Leiden, 1954 ; Noordhoff édit., Gröningen, Pays-Bas, pp. 236-50, 1955.
- Problems in the study of nuclear fine structure. 4^e Cong. int. Micr. électr., Berlin, 1958, Springer Verlag édit., Berlin, pp. 186-99, 1960.
- CLAUDE (A.) and FULLAM (E. F.). — A study of tissue culture cells by elec-

- tron microscopy. Methods and preliminary observations. *J. Exp. Med.*, **81**, 233, 1945.
- and KALLMAN (F. L.). — Significance of cell particulate as seen by electron microscopy. *Ann. N.-Y. Acad. Sc.*, **54**, 882-91, 1952.
 - and MACHADO (R. D.). — Studies on the endoplasmic reticulum IX. its form and distribution during mitosis in cells of Onion root tip. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **7**, 167-80, 1960.
- Py (G.). — Recherches cytologiques sur l'assise nourricière des microspores et les microspores des Plantes vasculaires. Thèse, Librairie gén. de l'Enseignement, édit., Paris, 1932. Voir également HUREL-Py (G.).
- RATTENBURY (J. A.) and SERRA (J. A.). — Types of nucleolus reconstitution in telophase and the question of « nucleolar organizer ». *Portugal. Acta Biol.*, **3**, 239-60, 1952.
- REBHUN (L. I.). — Electron microscopy of basophilic structures of some Invertebrate oocytes. I. Periodic lamellae and the nuclear envelope. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **2**, 93-104, 1956.
- RHODIN (J.). — Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the Mouse kidney. Thèse, Karolinska institutet Stockholm, 1954.
- Ris (H.). — The submicroscopic structure of chromosomes. *Symposium on fine structure of cells*, Leiden, 1954, Noordhoff édit., Groningen, Pays-Bas, pp. 121-34, 1955.
- A study of chromosomes with the electron microscope. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 385-90, 1956.
 - Die Feinstruktur des Kerns während der Spermiogenese. *Colloquium der Gesellschaft für physiologische Chemie*, Mosbach, 1958, Springer Verlag édit., Berlin, pp. 1-28, 1959.
- ROUILLET (Ch.). — Physiological and Pathological changes in mitochondrial morphology. *Int. Rev. Cyt.*, **9**, 227-92, 1960.
- and BERNHARD (W.). — « Microbodies » and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 355-59, 1956.
- ROBERTSON (J. D.). — The ultrastructure of cell membranes and their derivatives. *Biochemical Society Symposia*, **16**; *The structure and function of sub-cellular components*, at the University Press, Cambridge, pp. 3-43, 1959.
- ROBYNS (W.). — Le fuseau de caryocinèse et le fuseau de cytocinèse dans les divisions somatiques des Phanérogames. I. *La cellule*, **34**, 365, 1924.
- *Id.* II, *ibid.*, **37**, 145, 1926.
 - La figure achromatique sur le matériel frais dans les divisions somatiques des Phanérogames. *La Cellule*, **39**, 85-119, 1929.
- ROTH (L. E.). — Observations on cells of the ovotestis of a pulmonate Snail. 4^e Cong. int. Micr. électr., Berlin, 1958, Springer Verlag édit., Berlin, pp. 238-41, 1960.
- ROZSA (G.) and WYCKOFF (R. W.). — The electron microscopy of Onion root tip cells. *Exptl. Cell Res.*, **2**, 630, 1951.
- RUDZINSKA (M. A.). — Further observations on the fine structure of the macronucleus in *Tokophrya infusionum*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 425-28, 1956.
- RUTHMANN (A.). — The fine structure of the meiotic spindle of the Crayfish. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **5**, 177-79, 1959.
- RYTER (A.) et KELLENBERGER (E.). — Etude au microscope électronique de plasmas contenant de l'acide désoxyribonucléique. I. Les nucléosides des bactéries en croissance active. *Zeitsch. f. Naturf.*, **13**, 597-605, 1958.
- SAGER (R.) and PALADE (G. E.). — Structure and development of the chloroplasts in *Chlamydomonas*. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **3**, 463-88, 1957.
- SATIMARU (S.) and YOSHIZAWA (K.). — The fine structure of the cell as revealed by electron microscopic observation on the frozen dried cells. *Naturw.*, **46**, 19-20, 1959.
- SATO (S.). — Electron microscope studies on the mitotic figure. I. Fine structure of the metaphase spindle. *Cytologia*, **23**, 383-94, 1958.

- *Id.* II. Phragmoplast and cell plate. *Cytologia*, **24**, 98-106, 1959.
- SCARTH (G. W.). — The structural organization of Plant. *Protoplasma*, **2**, 189, 1927.
- SCHMIDT (W. J.). — Recent investigation *in vivo* on the division of Plant cells. *Bot. Rev.*, **4**, 446-72, 1938.
- Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung. *Chromosoma*, **1**, 253-64, 1939.
- SCHRADER (F.). — Mitosis. The movements of chromosomes in cell division. Columbia Univ. Press édit., New-York, 1944.
- SEMO (S.) and YOSHIZAWA (K.). — Electron microscope observations on frozen dried cells. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **8**, 617-38, 1960.
- SERRA (J. A.). — Interpretation of nucleolar inclusions. *Nature*, **181**, 1544-45, 1958.
- SHARP (L. W.). — Structure of large somatic chromosomes. *Bot. Gaz.*, **88**, 349, 1929.
- SITTE (P.). — Die Ultrastruktur von Wurzelmeristem der Erbse (*Pisum sativum*). *Protoplasma*, **49**, 447-522, 1958.
- Zum Bau der Plastidenzentren in Wurzelproplastiden. *Protoplasma*, **53**, 438-42, 1961.
- SJOSTRAND (F. S.). — Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. *Nature*, **171**, 30-32, 1953.
- The ultrastructure of mitochondria. *Symposium on fine structure of cells*, Leiden, 1954, Noordhoff édit., Gröningen, Pays-Bas, pp. 16-30, 1954.
- The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. *Int. Rev. Cyt.*, **5**, 455-533, 1956. Acad. Press édit., New-York.
- and HANZON (V.). — Membranes structures of cytoplasm and mitochondria in exocrine cells of Mouse pancreas as revealed by light resolution electron microscopy. *Exptl. Cell Res.*, **7**, 393-414, 1954 a.
- — Ultrastructure of Golgi apparatus of exocrine cells of Mouse pancreas. *Exptl. Cell Res.*, **7**, 415-29, 1954 b.
- and BAKER (R. F.). — Fixation by freezing-drying for electron microscopy of tissue cells. *J. Ultrastr. Res.*, **1**, 239-46, 1958.
- SOTELO (J. R.) and TRUJILLO-CENOZ (O.). — Submicroscopic structure of meiotic chromosomes during prophase. *Exptl. Cell Res.*, **14**, 1-8, 1958.
- — Electron microscope study on spermatogenesis. Chromosome morphogenesis at the onset of meiosis (cyte I) and nuclear structure of early and late spermatids. *Zeitsch. Zellforsch.*, **51**, 243-77, 1960.
- STRASBURGER (E.). — Ueber Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. *Pringsh. Jahrb.*, **36**, 493-610, 1901.
- STRUGGER (S.). — Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Herit. *Protoplasma*, **43**, 120-73, 1954.
- Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylprägnierung an Wurzelmeristemen. *Protoplasma*, **48**, 231-36, 1957 a.
- Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Proplastiden des Vegetationkegels von *Elodea densa*. *Protoplasma*, **48**, 360-64, 1957 b.
- Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Plasmodesmen des Urmeristems der Wurzelspitze von *Allium cepa*; ein Beitrag zur Kritik der Fixation und zur Beurteilung elektronenmikroskopischer Größenangaben. *Protoplasma*, **48**, 365-67, 1957 c.
- STRUGGER (S.) und PERNER (E. S.). — Beobachtungen zur Frage der ontogenetischen Entwicklung der somatischen Chloroplasten. *Protoplasma*, **46**, 711-42, 1956.
- und LINDNER (H.). — Untersuchungen zum Problem der Feinstruktur des Cytoplasmas der Wurzelmeristemzellen von *Allium cepa*. *Protoplasma*, **50**, 607-26, 1959.
- SWIFT (H.). — The fine structure of annulate lamellae. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, suppl. **2**, 415-18, 1956.
- Studies on nuclear fine structure. *Brookhaven symposia in Biology*, **12**, 134-52, 1959.
- and KLEINFELD (R.). — Cité par MOSES, 1958 b.
- TAYLOR (J. H.). — The duplication of chromosomes. *Sc. Am.*, **198**, 3-8, 1958.
- and McMASTER (R. D.). — Cité par MOSES, 1958 b.

- TELEZYNSKI (H.). — Le cycle du chromosome somatique. I. Observations vitales sur les poils staminaux de *Tradescantia virginiana* L. *Acta Soc. Bot. Poloniae*, **7**, 381-433, 1930.
- TOMLIN (S. G.) and CALLAN (H. G.). — Preliminary account of an electron microscope study of chromosomes from Newt oocytes. *Quat. J. Micr. Sci.*, **92**, 221-24, 1951.
- TURIAN (G.) et KELLENBERGER (E.). — Ultrastructure du corps paranucléaire, des mitochondries et de la membrane nucléaire des gamètes d'*Allomyces macrogynus*. *Exptl. Cell Res.*, **11**, 417-22, 1956.
- VINCENT (W. S.). — Structure and chemistry of nucleoli. *Int. Rev. Cyt.*, **4**, 269-98, Acad. Press, New-York, 1955.
- WADA (B.). — The mechanism of mitosis based on studies of submicroscopic structure and the living state of the *Tradescantia* cell. *Cytologia*, **16**, 1-26, 1950.
- Atractoplasm. *Proc. Int. Gen. Symp. (Cytologia suppl.)*, 129-32, 1957.
- and FUKUNAGA (K.). — A new technique to demonstrate the surface membrane of the spindle in preparations. *Cytologia*, **23**, 442-51, 1957.
- and SATO (S.). — Electron microscopic figures contributing to the analysis of the chromosome movement in anaphase. *The nucleus*, **1**, 173-82, 1958.
- WATSON (J. D.) and CRICK (F. H. C.). — A structure for desoxyribose nucleic acid. *Nature*, **171**, 737-38, 1953.
- WATSON (M. L.). — The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **1**, 257-70, 1955.
- Further observation on the nuclear envelope of the animal cell. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **9**, 147-56, 1959.
- WEST (C.) and LECHMERE (A. E.). — On chromatic extrusion in pollen mother-cells of *Lilium candidum*. *Ann. of Botany*, **29**, 285-91, 1915.
- WETTSTEIN (D. von). — Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Exptl. Cell Res.*, **12**, 427-506, 1957.
- Developmental changes in chloroplasts and their genetic control. *Developmental cytology*, The Ronald Press Company, edit. New-York, pp. 123-60, 1959.
- WHALEY (W. G.), MOLLENHAUER (H. H.) and LEECH (J. H.). — The ultrastructure of the meristematic cell. *Am. J. Bot.*, **47**, 401-49, 1960.
- WILLIAMS (R. C.) and KALLMAN (F.). — Interpretations of electron micrographs of single and serial sections. *J. Biophys. and Biochem. Cytology*, **1**, 301-14, 1955.
- WISCHNITZER (S.). — An electron microscope study of the nuclear envelope of amphibian oocytes. *J. Ultrastr. Res.*, **1**, 201-22, 1958.
- YASUI (K.). — On the cytokinesis in some Angiosperms, with special reference to the middle lamella initial (M. D. I.) formation and the phragmoplast. *Cytologia*, **10**, 557-74, 1939.
- YASUZUMI (G.). — Ultrastructure of the salivary gland chromosome as revealed by electron microscopy. *Experientia*, **13**, 313-14, 1957.
- YASUZUMI (G.), ODATE (Z.) and OTA (Y.). — The fine structure of salivary chromosomes. *Cytologia*, **16**, 233-42, 1951.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE 1

Oncidium splendidum

Noyau en préprophase ; nucléole (nu), particules denses (d) dispersées dans le nucléoplasme et semblant être des particules nucléolaires. Enveloppe nucléaire (en) avec des pores (p). « Foamy-particles » (f).

En bas à gauche, un axe légèrement dense situé au centre d'une zone constituée de fibrilles de chromatine, évoquant une formation axiale simple (fs) en train de se constituer.

Un peu plus haut, à l'endroit marqué (ch), des fibrilles de chromatine sont allongées parallèlement. On peut penser qu'en se tordant ensemble elles donnent une formation axiale simple.

Dans le cytoplasme (C), on peut voir des vésicules (vs). La flèche double indique une liaison entre l'ergastoplasme et l'enveloppe nucléaire. La région cernée de flèches montre une invagination de l'enveloppe nucléaire.

× 65.000.

PLANCHE 2

Oncidium splendidum

Fragment de noyau au moment de la 1^{re} contraction. Nucléole (nu). Dans le noyau, granules denses paraissant être d'origine nucléolaire (flèches). Enveloppe nucléaire (en), présentant des décollements (d).

Dans le cytoplasme, des mitochondries (m) et des plastes (pl).

× 39.000.

PLANCHE 3

Oncidium splendidum

Noyau interphasique (ou proche de la mitose) de la microspore. L'enveloppe nucléaire (en), coupée obliquement en quelques endroits, montre des anneaux (a). A l'intérieur du noyau, les travées de chromatine sont floues. Par contre, il existe, en bas et à gauche, une travée avec un cœur dense (flèche) qui rappelle une formation dense et simple.

Dans le cytoplasme, les saccules de l'ergastoplasme (er) sont en rapport avec l'enveloppe nucléaire (double flèche). Les vacuoles (v) sont des dilatations de l'ergastoplasme. La flèche indique une communication entre un saccule et une vacuole. Les grains de Palade sont bien visibles dans le cytoplasme. Parfois ils semblent libres, d'autres fois ils paraissent adhérents aux membranes de l'ergastoplasme.

× 43.000.

PLANCHE 4

Oncidium splendidum

N : noyau de la microspore. L'enveloppe nucléaire coupée tangentiellement montre des anneaux sectionnés à différents niveaux (explication dans le texte). Les flèches désignent les grains de Palade entourant le bord externe des anneaux.

Au centre de la figure, invagination de l'enveloppe nucléaire avec ses anneaux.

× 58.000.

PLANCHE 4'

Interprétation de la Pl. 4.

PLANCHE 5

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Nucléole (nu) en préprophase. Les doubles flèches indiquent les contacts entre la chromatine et le nucléole.

A l'intérieur du nucléole et même à l'extérieur, on distingue des « foamy-particles » (f). Certaines fibrilles qui constituent le nucléole sont paires (flèche).
 × 95.000.

Fig. 2. — Portion d'un noyau en préprophase, comprenant une partie du nucléole (nu), de l'enveloppe nucléaire (en) et de la chromatine (ch) qui serpente dans le noyau et qui vient se loger dans une dépression du nucléole (d).

Flèches : « foamy particles ».

Doubles flèches : particules qui ressemblent par leur densité au matériel nucléolaire.

× 61.000.

PLANCHE 6

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Fragment de noyau (N) limité par son enveloppe nucléaire (en). Il possède des chromocentres (cm) formés de filaments plus ou moins perpendiculaires à la surface du noyau (grande flèche). Les doubles flèches indiquent des régions où les fibrilles paraissent être individuellement enroulées en hélice. Tra-vées de chromatine (tr).

np : nucléoplasme.

L'enveloppe nucléaire (en) présente un décollement (cerné de petites flèches). Par endroits, l'enveloppe nucléaire paraît être formée par trois membranes (mt).

Dans le cytoplasme, de nombreuses vacuoles (v).

× 68.000.

Fig. 2. — Noyau à la première contraction. Enveloppe nucléaire (en). Formation axiale simple (fs) coupée obliquement et montrant un « cœur » plus dense (double flèche) auquel viennent se raccorder les fibrilles (flèches).

On distingue des granulations denses (g) dans le nucléoplasme et au voisinage même de la formation axiale.

× 61.000.

PLANCHE 7

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Noyau (N) en préprophase, limité par son enveloppe nucléaire (en). Dans le cytoplasme, nombreux profils de l'ergastoplasme (traits formant un V). Au voisinage de l'enveloppe nucléaire, on observe des vésicules (doubles flèches) dont la situation à proximité de l'enveloppe nucléaire suggère des liaisons.

Flèche simple (à gauche) : indique la coupe d'un bourgeon de l'enveloppe nucléaire.

× 39.000.

Fig. 2. — Autre exemple de Noyau (N) possédant de nombreuses vésicules (flèches) au voisinage de son enveloppe nucléaire (en) plissée.

× 41.000.

PLANCHE 8

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Noyau en préprophase. Le noyau, entouré par son enveloppe nucléaire (en), est très festonné. La membrane externe est parfois décollée de la membrane interne (flèches).

Petits fragments de nucléole (mn) qui se rapprochent de l'enveloppe nucléaire. Les fragments sont d'autant plus petits qu'ils sont plus externes.

× 39.000.

Fig. 2. — Noyau (N) avec un nucléole (nu) et des fragments de nucléole (mn) dont l'un est associé avec de la chromatine (ch).

fs : formation simple. L'enveloppe nucléaire est plissée.

A gauche, elle est coupée tangentiellement dans le fond d'une invagination et elle montre des anneaux (a). Ailleurs, elle présente une évagination (flèche).

m : chondriosome ; pl : plaste.

× 42.000.

PLANCHE 9

Oncidium splendidum

Aspect général du noyau au stade de la première contraction. Nucléole (nu) et petits fragments nucléolaires (mn) qui se rapprochent de l'enveloppe nucléaire. La double flèche indique le lieu où la chromatine est associée à du matériel nucléolaire.

fs : formations axiales simples.

Les flèches cernent une invagination de l'enveloppe nucléaire.

× 13.000.

PLANCHE 10

Oncidium splendidum

Aspect général d'un noyau au stade de la première contraction. Le noyau a un contour assez irrégulier ; en haut et à droite, invagination de la membrane nucléaire (grande flèche).

Dans le noyau, on observe le nucléole (nu). Dans le nucléoplasme, on remarque de nombreuses granulations denses (dont quelques-unes ont été indiquées par des flèches courtes) d'origine nucléolaire.

La chromatine forme de grosses masses (ch), en bordure desquelles on distingue des formations denses simples (fs) ou doubles (fd) ; en bas et à droite, une formation double coupée presque perpendiculairement (double flèche).

× 17.000.

PLANCHE 11

Oncidium splendidum

Formation double arquée (fd). Les deux axes ne sont visibles simultanément que sur une partie de leur parcours, car la formation change de plan. Les flèches indiquent l'existence de fibrilles spiralées, plus ou moins obliques par rapport à l'axe de la formation, qui se répètent périodiquement le long de celle-ci.

Les flèches doubles montrent des granulations qui, par leur taille et leur densité, rappellent le matériel nucléolaire.

× 58.000.

PLANCHE 11'

Interprétation de la Pl. 11.

PLANCHE 12

Oncidium splendidum

Noyau en première contraction. Formations simple (fs) et double (fd) coupées sous des angles divers. (A) désigne l'axe de la formation. (X) montre les endroits où la formation est coupée tangentiellement.

(1), (2), (3) marquent des formations simples coupées transversalement.

Les flèches indiquent des fibrilles de chromatine qui partent perpendiculairement à la formation. Les doubles flèches désignent des traces qui suggèrent que les fibrilles sont spiralées.

np : nucléoplasme ; en : enveloppe nucléaire.

× 58.000.

PLANCHE 12'

Interprétation de la Pl. 12.

PLANCHE 13

Oncidium splendidum

Le noyau (N) contient une formation simple (fs) qui s'infléchit et atteint l'enveloppe nucléaire (en). Cette dernière présente des décollements (d).

La formation simple est formée de fibrilles qui s'étalent ensuite dans le nucléoplasme perpendiculairement à l'axe et qui s'enroulent en hélice (flèches).

(g) : granulations denses.

Dans le cytoplasme (C), on trouve des vacuoles (v) et des grains de Palade (gp) dont certains paraissent attachés à des membranes qui, dans ce cas, seraient du type « rough ».

× 107.000.

PLANCHE 13'

Interprétation de la Pl. 13.

PLANCHE 14

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Aspect du noyau à la diacinèse. Les chromosomes (ch) homologues sont tordus ensemble comme il est indiqué dans le schéma de la Pl. 14'. Le sillon (S) qui les sépare est coupé en plusieurs endroits. Dans chaque chromosome, on observe des espaces clairs (ec) qui représentent des axes d'enroulement.

Les flèches montrent des fibrilles enroulées en hélice.

Les doubles flèches indiquent des particules denses dispersées dans le nucléoplasme (np).

× 34.000.

Fig. 2. — Deux chromosomes homologues (ch) laissent entre eux un sillon (S) parallèle au plan de la coupe. Dans la partie supérieure de la coupe, un chromosome (entouré par des flèches) montre une région plus claire (ec) que l'on peut considérer comme un axe d'enroulement.

A gauche, on observe deux chromosomes coupés presque transversalement, qui

laissent voir un axe clair (doubles flèches). Dans l'un, on distingue une granulation dense (g).

× 34.000.

PLANCHE 14'

Interprétation de la Pl. 14, fig. 1.

PLANCHE 15

Oncidium splendidum

Fig. 1. — La flèche désigne un endroit de l'enveloppe nucléaire où les granules denses sont abondants. Leur présence à proximité de l'enveloppe nucléaire semble indiquer qu'ils viennent de la traverser.

(vs) : vésicule située au contact de l'enveloppe nucléaire et pouvant avoir été formée par elle.

× 34.000.

Fig. 2. — Formation double (fd) dont on voit un des éléments latéraux s'enrouler en hélice ; les flèches désignent les spires.

× 34.000.

PLANCHE 16

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Autre aspect d'une formation simple s'enroulant en hélice (flèche).

× 34.000.

Vanda boshii

Fig. 2. — Noyau au pachytène. Nucléole (nu) ; chromosomes (ch) appariés laissant entre eux un sillon clair (S). Les chromosomes sont festonnés (flèches), ce qui semble indiquer un enroulement ; double flèche : chromosome parallèle à l'enveloppe nucléaire.

× 10.000.

PLANCHE 17

Vanda boshii

Fig. 1. — Coupe diamétrale de l'enveloppe nucléaire (en) ; on voit qu'elle est formée de deux membranes. On remarque deux pores (p) et (p'). Le pore (p) est bordé par deux dilatations (d).

× 120.000.

Fig. 2. — Grain de pollen. La plaque cellulaire (pc) est située entre la cellule végétative dont on distingue le noyau (NV) et la cellule génératrice avec son noyau (NR) ; elle est encore formée par des vacuoles vraisemblablement pectiques (vp). Celles-ci sont alignées et certaines sont confluentes (flèche).

di : dictyosomes ; pd : « ponts » cytoplasmiques entre cellules reproductrice et végétative.

× 44.000.

PLANCHE 17'

Interprétation de la Pl. 17, fig. 1.

PLANCHE 18

Vanda boshii

Fig. 1. — Noyau à la diacinèse. Coupe longitudinale d'un chromosome. La flèche courte montre une des bosses causées par l'enroulement.

e : espace clair résultant soit de l'espace laissé entre deux tours contigus, soit d'un axe d'enroulement entre deux chromatides. Les grandes flèches désignent les endroits où la chromatine prend contact avec la membrane nucléaire.

np : nucléoplasme très clair possédant quelques granulations (doubles flèches).

dm : membranes de l'ergastoplasme formant une paire.

en : enveloppe nucléaire avec des pores p.

× 61.000.

Fig. 2. — Noyau au diplotène. Les deux chromosomes (ch_1) et (ch_2) se séparent au voisinage de l'enveloppe nucléaire. Un des deux chromosomes fait une boucle dans le centre de la figure. Les flèches longues indiquent l'enroulement en hélice de la chromatide (f) qui constitue le chromosome. L'espace clair au centre représente l'axe d'enroulement (ec). Quelques-uns des espaces clairs possèdent une granulation dense (gd). L'espace compris entre les deux flèches courtes indique l'épaisseur du chromosome.

np : nucléoplasme avec des granulations (g).

× 39.000.

PLANCHE 19

Vanda boshii

Fig. 1. — Noyau à la diacinèse; coupe d'un bivalent; les deux chromosomes (ch_1) et (ch_2) sont séparés par un sillon (S).

lc : ligne claire.

en : enveloppe nucléaire; g : granulations denses dans le nucléoplasme (np).

× 42.000.

Fig. 2. — Chromosome à la télophase de la première division pollinique. Il est constitué de fibrilles dont certaines sont assemblées par paire (flèches). A l'intérieur, on distingue des espaces clairs (ec) qui séparent des filaments (f).

L'enveloppe nucléaire (en) présente encore des dilatations d.

× 61.000.

PLANCHE 20

Vanda boshii

Fig. 1. — Noyau au stade diplotène. Les chromosomes sont coupés ici obliquement. Jonctions de l'enveloppe nucléaire avec l'ergastoplasme (flèches); en : enveloppe nucléaire; np : nucléoplasme; m : mitochondrie; pl : plaste.

× 39.000.

Fig. 2. — Noyau au stade diplotène. A droite, bivalent formé de deux chromosomes homologues (ch_1) et (ch_2) séparés par un sillon (S). Le chromosome (ch_2) est lui-même constitué par deux filaments (= chromatides) (f).

A gauche : deuxième bivalent, même légende.

A gauche, en bas : les filaments f_1 et f_2 font partie d'un autre bivalent.

× 41.000.

PLANCHE 21

Vanda boshii

Cellule-mère à la fin de la prophase I.

Dans le cytoplasme, profils de l'ergastoplasme (er) parallèles à l'enveloppe nucléaire. Dilatations de l'enveloppe nucléaire (flèches). Fragmentation de l'enveloppe nucléaire (double flèche) ; dictyosome (di).

A l'intérieur du noyau, le nucléole (nu) est encore présent. Il possède un espace clair au centre (ec). Chromosomes (ch).

En bas et à gauche, on distingue une formation particulière (fp).

× 39.000.

PLANCHE 22

Vanda boshii

Fig. 1. — Noyau en diacinèse. Les deux chromosomes homologues sont séparés par un sillon (S) ; la flèche située dans le sillon montre des liaisons entre les deux chromosomes (ch). Chacun des chromosomes possède un espace clair (flèches à l'intérieur des chromosomes) dans son centre qui représente soit un axe d'enroulement, soit la duplication intervenue dans chacun des chromosomes. En bas, à gauche, deux chromatides coupées plus ou moins transversalement ; np : nucléoplasme.

Double flèche : liaison entre l'enveloppe nucléaire et l'ergastoplasme.

v : vacuoles ; er : tubules de l'ergastoplasme parallèles à l'enveloppe nucléaire.

× 39.000.

Fig. 2. — Les chromosomes de métaphase I sont coupés ici obliquement. Les espaces clairs (ec) représentent des axes d'enroulement et ne contiennent ici aucune granulation dense. Les fins tubules de l'ergastoplasme sont désignés par des flèches. Ils sont souvent groupés en faisceaux ; v : vacuoles limitant extérieurement le fuseau.

× 39.000.

PLANCHE 23

Vanda boshii

Chromosomes de métaphase I, constitués par des fibrilles dont certaines semblent enroulées en hélice (double flèches). Simple flèche : région où la limite du chromosome n'est pas nette : il est difficile de départager les éléments du fuseau des fibrilles du chromosome. A l'intérieur d'un chromosome, on trouve des espaces clairs (ec).

Dans le fuseau, on observe des tubules (t) et des fibrilles zigzagantes (z) (cytonémata ?). Les cercles (c) sont les coupes transversales de ces tubules ou de ces fibrilles.

g : granulations osmiophiles ; v : vacuoles.

× 39.000.

PLANCHE 24

Vanda boshii

Métaphase I. Groupe de trois chromosomes ; les deux chromosomes inférieurs ne sont pas encore libérés l'un de l'autre. La liaison est assurée par le filament (f). ec : espace clair ; v : vacuoles.

Les tubules de l'ergastoplasme, coupés transversalement, sont groupés en faisceaux (flèches) ; doubles flèches : vésicules.

pe : pellicule ectoplasmique présentant des invaginations i (en bas et à droite de la figure). mp : membrane pecto-cellulosique avec une perforation (p) dans laquelle s'engage la chromatine.

× 48.500.

PLANCHE 25

Vanda boshii

Chromosome de métaphase de la première division pollinique (au centre de la figure). On distingue les fragments de deux autres chromosomes à droite et à gauche.

Les chromosomes de la première division pollinique sont plus minces et plus allongés que les chromosomes de métaphase I. Les festons qui le bordent montrent son enroulement.

Les flèches indiquent les tubules de l'ergastoplasme contenus dans le fuseau.

v : vacuoles ; di : dictyosome.

× 34.000.

PLANCHE 26

Vanda boshii

Anaphase de la première division pollinique. En haut, chromosomes qui formeront le noyau reproducteur ; en bas, les chromosomes du noyau végétatif.

pc : emplacement de la plaque cellulaire ; ve : vésicules ; v : vacuoles ; t : tubules de l'ergastoplasme ; g : granulations.

La double flèche indique une région du phragmoplaste où l'aspect en chaînettes est dû non pas à un tube, mais à une série de tubules alignés et coupés obliquement.

× 39.000.

Erratum : à la place de i, lire t.

PLANCHE 27

Vanda boshii

Anaphase de la première division pollinique. Lot de chromosomes végétatifs (CV) et lot de chromosomes reproducteurs (CR). Phragmoplaste avec la plaque cellulaire (pc) formée d'une série de vacuoles v et de tubules de l'ergastoplasme (t), coupés plus ou moins obliquement.

× 62.000.

PLANCHE 28

Vanda boshii

Anaphase de la première division pollinique. La plaque cellulaire (pc) traverse obliquement la figure. Elle est formée par des vacuoles aplaties (v) et des tubules de l'ergastoplasme groupées en travées (tr). Dans le phragmoplaste, on observe des tubules de l'ergastoplasme (er) et des vacuoles (v).

Sur le même plan que la plaque cellulaire (en haut et à droite, flèche) on remarque un organite arrondi et dense, qui rappelle les « microbodies ».

Dans le phragmoplaste, en bas et à gauche (cerné par des flèches), un organite piriforme, d'allure mitochondriale.

En bas à droite et en haut à gauche, chromosomes (ch).

× 65.000.

PLANCHE 29

Vanda boshii

Fig. 1. — Evolution du phragmoplaste à la télophase de la première division pollinique. Au niveau de la plaque cellulaire, les vacuoles (vp) sont aplaties et contiennent une substance grisâtre, vraisemblablement pectique. Entre les vacuoles, il subsiste des passages (pd), à l'origine des plasmodesmes.

t : tubules de l'ergastoplasme ; NR : noyau reproducteur ; CV : cytoplasme de la cellule végétative.

× 61.000

Fig. 2. — La plaque cellulaire (pc) est entièrement formée. L'espace compris entre les deux pellicules ectoplasmiques est clair parce que la substance pectique s'est dissoute ou n'a pas été fixée.

Flèches : tubules de l'ergastoplasme ; en : enveloppe nucléaire présentant quelques dilatations (d) ; CV : cytoplasme végétatif ; NR : noyau reproducteur.

× 29.000.

PLANCHE 30

Aerides houilletianum

Enveloppe nucléaire coupée tantôt perpendiculairement [on voit les pores (p)], tantôt obliquement [on remarque les anneaux (a)].

Nucléole (nu) émettant de petits fragments nucléolaires (flèches). A l'intérieur du nucléole, nombreux espaces clairs (ec). Des travées de chromatine (ch) prennent contact avec le nucléole qui, ailleurs, est entouré par une zone claire (zc). di : dictyosome.

PLANCHE 31

Aerides houilletianum

Enveloppe nucléaire coupée tangentiellement et montrant ses anneaux (a).

Nucléole spongieux (nu) avec lequel les travées de chromatine (ch) prennent contact. En dehors de ces travées, le nucléole est entouré par une zone claire (zc). A l'intérieur du nucléole, espaces clairs (ec).

N : noyau ; C : cytoplasme.

× 49.000.

PLANCHE 32

Aerides houilletianum

Cellule-mère à la télophase II, avec deux de ses noyaux (N) ; celui du haut est proche de la plaque cellulaire (pc), alors que celui du bas en est éloigné.

La plaque cellulaire (pc) est presque totalement formée et se relie à la membrane pecto-cellulosique des cellules-mères (mp). Il subsiste encore quelques ponts de cytoplasme entre les deux cellules (pd) ; ils sont à l'origine des plasmodesmes.

Dans le noyau, les flèches désignent des particules denses, d'aspect nucléolaire, disposées à la périphérie des chromosomes.

× 12.000.

PLANCHE 33

Fig. 1. — *Aerides houilletianum*.

Noyau à la télophase. La chromatine (ch) forme des masses de faible densité.

Elles sont bordées par des granulations plus denses qui ressemblent à du matériel nucléolaire (flèches).

× 29.000.

Fig. 2. — *Aerides* sp.

Noyau fixé au permanganate de potassium. La chromatine n'est pas mise en évidence par ce procédé de fixation. Aussi les chromosomes (ch) apparaissent-ils négativement et restent clairs, alors que le fond nucléaire (np), composé de protéines, est dense. Les grandes flèches simples indiquent la présence d'un axe dense, donc protéique, qui est peut-être le sillon interchromosomique. Les doubles flèches désignent cet axe coupé transversalement.

Dans les chromosomes, on remarque des fibrilles extrêmement fines (flèches courtes).

× 17.000.

PLANCHE 34

Aerides houilletianum

Coupe de quatre microspores associées pour constituer une tétrade. Les quatre microspores sont notées 1, 2, 3 et 4. Seul le noyau de la microspore 1 est visible.

Les cellules sont séparées par des membranes pecto-cellulosiques (mp), raccordées à la membrane commune (mpc).

× 13.000.

PLANCHE 34'

Interprétation de la planche précédente.

PLANCHE 35

Oncidium splendendum

Cytoplasme avec des mitochondries (m, m₁, m₂, etc...), des plastes indifférenciés (pl), des saccules de l'ergastoplasme et de nombreux grains de Palade. Vacuoles (v).

En bas, à gauche, portion de noyau (N), limité par son enveloppe nucléaire (en) ; flèches : granulations osmiophiles dans les mitochondries.

× 41.000.

PLANCHE 36

Oncidium splendendum

Fig. 1. — Ergastoplasme dans les cellules-mères ; saccules (s) ; tubules (t) ; vésicules (ve).

La double flèche indique le passage d'un tubule à un saccule dilaté. Les flèches marquent des profils de saccules dont les parois sont évanescences parce qu'elles sont coupées obliquement.

Au centre un plaste (pl).

× 58.000.

Fig. 2. — Dictyosome (di) formé par un empilement de saccules (s) dont les extrémités sont renflées en ampoules (A). Les doubles flèches marquent la jonction entre les saccules et les ampoules. Les flèches courtes indiquent les endroits où la paroi des ampoules est distincte.

vs : vésicules.

Portion de noyau (N). L'enveloppe nucléaire (en) forme une évagination (flèche) dans le cytoplasme.

× 65.000.

PLANCHE 37

Oncidium splendidum

Fig. 1. — Plastés indifférenciés dans lesquels on ne trouve plus que quelques rares crêtes (flèche). En bas, dans le coin gauche, une mitochondrie.
 × 39.000.

Fig. 2. — Autre exemple de plastés indifférenciés (pl) avec des crêtes dilatées en forme de poche (po) et des granulations denses (go). La substance fondamentale est très claire aux électrons.

Les flèches désignent les endroits où l'on peut voir la membrane double du plaste ; di : dictyosome.

× 76.500.

PLANCHE 38

Oncidium splendidum

Cytoplasme de cellule-mère au cours de la prophase I.

En bas, mitochondrie sectionnée diamétralement. Elle possède des crêtes courtes et une substance fondamentale très claire. Au-dessus, deux mitochondries accolées et coupées subtangentiellement ; leurs membranes sont évanescences.

En haut, à gauche, plaste indifférencié.

De nombreux grains de Palade sont dispersés dans le cytoplasme.

× 76.000.

PLANCHE 39

Oncidium splendidum

Deux cellules-mères au stade de la première contraction sont séparées par une membrane pecto-cellulosique (mp). Le cytoplasme est limité par une pellicule ectoplasmique (pe) souvent simple. En quelques endroits, on constate qu'elle est double (flèches). Les invaginations (i) de la paroi ont des doubles membranes. Quelques invaginations peuvent s'isoler par pincement pour donner des vacuoles à double paroi (doubles flèches).

Les autres vacuoles (v) proches de la paroi sont limitées par une simple membrane.

Des plasmodesmes (pd) relient les deux cytoplasmes. Le noyau (N) envoie par une perforation un fragment de noyau (Ne). d : décollement entre l'enveloppe nucléaire du noyau « exilé » et la chromatine.

× 60.000.

PLANCHE 40

Aerides houilletianum

Fig. 1. — Cellule au début de la prophase I. On devine deux plasmodesmes (pd). Dans celui du haut, un plaste est engagé à l'intérieur.

mp : membrane pecto-cellulosique.

× 58.000.

Fig. 2. — Cytoplasme d'une cellule-mère ; lc : leucoplaste avec des crêtes concentriques à la paroi ; m : mitochondries. Les nombreux espaces clairs situés dans le cytoplasme sont des vacuoles.

× 61.000.

PLANCHE 41

Aerides houilletianum

Cellule végétative du grain de pollen. Nombreuses mitochondries (m) dont certaines ont encore des crêtes groupées en « paquets » (flèches).

On distingue également un proplaste (Pp) avec sa crête concentrique (cr).
 × 61.000.

PLANCHE 42

Aerides houilletianum

Fig. 1. — Microspore ; coupe de leucoplastes (lc) avec crête concentrique. Le leucoplaste situé à droite possède une vésicule amylière (am) ; m : mitochondrie.
 × 46.000.

Fig. 2. — Microspore ; son cytoplasme contient des mitochondries avec crêtes groupées en « paquets ». Elles prennent naissance à partir de la membrane interne de la paroi (flèche).
 × 46.000.

PLANCHE 43

Vanda boshii

Aspect du cytoplasme au milieu de la prophase hétérotypique ; pl : plastes ; m : mitochondrie ; v : vacuoles ; di : dictyosomes ; les flèches indiquent les accumulations de vésicule.

N : noyau ; en : enveloppe nucléaire.
 × 32.000.

PLANCHE 44

Vanda boshii

Fig. 1. — Formation particulière cernée par des flèches. ch : filament chromosomique ; en : enveloppe nucléaire.
 × 65.000.

Fig. 2. — Pellicule ectoplasmique (pe) avec des invaginations (i) ; mp : membrane pecto-cellulosique ; v : vacuole.
 × 39.000.

PLANCHE 45

Vanda boshii

Fig. 1. — Cytoplasme à la fin de la prophase I. Mitochondries (m_1 , m_2 , m_3 , m_4) avec des crêtes abondantes (flèches). Les plastes (pl) possèdent quelques rares lamelles et une substance fondamentale très claire.
 × 39.000.

Fig. 2. — Plastes indifférenciés avec de rares lamelles (l), des vésicules (flèches) et quelquefois des granulations (gs).
 × 44.000.

PLANCHE 46

Vanda boshii

Fig. 1. — Microspore ; coupe longitudinale d'un plaste (au centre) et coupe oblique (en bas, à gauche).

cr, cr' : crêtes ; go : granules denses ; l : lamelles granaires ; s : région inter-granaire ne possédant pas de lamelles ; x, x' : liaisons entre les crêtes et les lamelles granaires ; c : constriction des lamelles. Vacuole (v) en liaison avec l'ergastoplasme (er) ; vacuole (r) sans liaison visible avec l'ergastoplasme.

Les tubules (flèches simples) et les crêtes (flèche double) prennent naissance à partir de la membrane interne de la paroi du plaste.

× 60.000.

Fig. 2. — Plaste (Pl) engagé dans une perforation de la membrane pecto-cellulosique (mp).

g : granum primaire ; di : dictyosome.

× 65.000.

PLANCHE 47

Vanda boshii

Microspores ; coupes longitudinales (à gauche) et transversales (à droite) de plastés.

cr : crêtes ; go : granules denses ; l : lamelles granaires ; s : substance fondamentale ; ec : espace clair.

× 60.000.

PLANCHE 48

Vanda boshii

Chondriosomes coupés longitudinalement (1), (3), et transversalement (2), (4). Ils possèdent des crêtes courtes (flèches). A l'intérieur de certaines [marquées (po)], on remarque le dépôt d'une substance granuleuse ou filamenteuse (doubles flèches).

× 60.000.

PLANCHE 49

Vanda boshii

Chondriosomes coupés longitudinalement et transversalement.

× 60.000.

PLANCHE 50

Vanda boshii

En bas, à gauche, un proplaste coupé transversalement ; cr : crête concentrique à la paroi ; s : substance fondamentale dense avec des espaces clairs (c) ; gp : granum primaire composé de granules ; gp' : granum primaire accessoire. La double flèche indique le lieu où une crête est en contact avec une membrane limitant le granum primaire accessoire. La flèche simple désigne une crête présentant des constriction.

En haut, à gauche, coupe longitudinale d'un proplaste avec granum primaire (gp). di : dictyosomes.

× 60.000.

PLANCHE 51

Fig. 1. — *Vanda boshii*.

Coupe de quatre grains de pollen d'une même tétrade. Ils présentent des exemples de cytomixie multiple. La flèche indique le passage de la chromatine du noyau végétatif d'une cellule dans une autre. Les doubles flèches signalent des passages qui se sont effectués en dehors de la coupe. Les parties « exilées » du noyau se distinguent par suite de leur densité plus grande que celle des noyaux « autochtones ».

× 10.000.

Fig. 2. — *Aerides houilletianum*.

Cytomixie entre cellules végétatives du grain de pollen. NV : noyau végétatif ; Ne : partie « exilée » du noyau ; mp : membrane pecto-cellulosique.

× 29.000.

PLANCHE 52

Vanda boshii

Fig. 1. — Cytomixie entre cellules végétatives du grain de pollen. Un fragment du noyau végétatif nv_1 pénètre dans la cellule voisine et vient au contact du noyau végétatif nv_2 . Nombreuses vacuoles (v), dont certaines proviennent de dilatations de l'enveloppe nucléaire.

Flèches : régions où la structure de l'enveloppe nucléaire est nette ; mp : membrane pecto-cellulosique.

× 35.000.

Fig. 2. — Le noyau végétatif nv_1 est relié à la partie « exilée » située dans l'autre cellule par un pédicule traversant la membrane pecto-cellulosique (mp) par une perforation. Dans la partie « exilée » du noyau, il se produit un décollement entre l'enveloppe nucléaire et la chromatine.

L'enveloppe nucléaire du noyau nv_2 présente de nombreuses dilatations (flèches).

× 42.000.

PLANCHE 52'

Interprétation de la planche 52.

Fig. 1. — Même légende ; ne : noyau « exilé ».

Fig. 2. — Même légende.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CYTO-TAXONOMIQUE DES ORCHIDÉES

VU ET APPRUVÉ :

Paris, le 14 Février 1962.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

